

JACKSON CESAR BASSFELD

TOXICIDADE AGUDA PARA ORGANISMOS-TESTE *Selenastrum capricornutum* PRINTZ (ALGA - CHLOROPHYCEAE) E *Daphnia magna* STRAUS (CRUSTACEA: CLADOCERA) DE CINCO AGROTÓXICOS FREQUENTEMENTE UTILIZADOS NA BACIA HIDROGRÁFICA DO RIO NHUNDIAQUARA - MORRETES - PR

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Engenharia Florestal do Setor de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências Florestais.

Orientador: Prof. Dr. Nivaldo Eduardo Rizzi

CURITIBA
2001



Universidade Federal do Paraná
Setor de Ciências Agrárias – Centro de Ciências Florestais e da Madeira
Programa de Pós-Graduação em Engenharia Florestal
Av. Lothário Meissner, 3400 – Jardim Botânico – CAMPUS III
80210-170 – CURITIBA – Paraná
Tel. (41) 360.4212 – Fax. (41) 360.4211 – <http://www.floresta.ufpr.br/pos-graduacao>
e-mail: pinheiro@floresta.ufpr.br

PARECER

Defesa nº 446

A banca examinadora, instituída pelo colegiado do Curso de Pós-Graduação em Engenharia Florestal, do Setor de Ciências Agrárias, da Universidade Federal do Paraná, após argüir o mestrando **JACKSON CESAR BASSFELD** em relação ao seu trabalho de dissertação intitulado "TOXIDADE AGUDA PARA ORGANISMOS-TESTE *Selenastrum capricornutum* PRINTZ (ALGA-CLOROFÍCEAE) E *Daphnia magna* STRAUS (CUSTACEA: CLADOCERA) DE CINCO AGROTÓXICOS FREQUENTEMENTE UTILIZADOS NA BACIA HIDROGRÁFICA DO RIO NHUNDIAQUARA - MORRETES - PR, é de parecer favorável à **APROVAÇÃO** do acadêmico, habilitando-o ao título de *Mestre em Ciências Florestais*, na área de concentração em *Conservação da Natureza*.

Dr. Nivaldo Eduardo Rizzi

Professor e pesquisador do Departamento de Florestais da UFPR
Orientador e presidente da banca examinadora

Dr. Adelino Pelissari

Professor e pesquisador do Departamento de Fitotecnia e Fitossanitarismo da UFPR
Primeiro examinador

Dr. Hedda Elisabeth Kolm

Professora e pesquisadora do Centro de Estudos do Mar da UFPR
Segundo examinador

Curitiba, 26 de outubro de 2001.

Nivaldo Eduardo Rizzi

Coordenador do Curso de Pós-Graduação em Engenharia Florestal

Franklin Galvão

Vice-coordenador

DEDICATÓRIA

Às presentes e futuras gerações.

*Agradeço
a todos que em minha migração pisciana me alimentaram com os seus
pensamentos e habilidades.*

FOTO 1



Bacia do Rio Nhundiaquara, Morretes, Paraná, Brasil
Foto: Nelson Yoneda

*Existe o princípio uno
que a tudo rege,
que a tudo gera,
que a tudo forma.
A água é o princípio.
Tudo vem da água.
A água primordial límpida
que recobre os mares,
que flui na calha dos rios,
que nos mata a sede,
que nos forma,
que se evapora para os céus
e do céu cai como benção dos deuses.
Existe o princípio uno e simples,
simples como água.*

Tales de Mileto

SUMÁRIO

	LISTA DE QUADROS	vii
	LISTA DE ILUSTRAÇÕES	viii
	LISTA DE SIGLAS	viii
	RESUMO	ix
	ABSTRACT	x
1	INTRODUÇÃO	1
1.1	OBJETIVO GERAL	2
1.2	OBJETIVOS DECORRENTES OU SECUNDÁRIOS	2
2	REVISÃO DE LITERATURA	3
2.1	CONTEXTO DA LEGISLAÇÃO FEDERAL DE AGROTÓXICOS E AFINS	17
2.2	CONTAMINAÇÃO DOS SOLOS E AMBIENTES AQUÁTICOS POR AGROTÓXICOS	22
2.3	INSERÇÃO REGIONAL E CARACTERÍSTICAS FISIOGRAFÍAS DA BACIA HIDROGRÁFICA DO RIO NHUNDIAQUARA	27
2.4	OCUPAÇÃO DO SOLO DA BACIA DO NHUNDIAQUARA	34
3	MATERIAL E MÉTODOS	36
3.1	BIOENSAIOS DE TOXICIDADE AGUDA	36
3.1.1	Equipamentos e Vidrarias.....	36
3.1.2	Reagentes químicos analíticos	37
3.2	Identificação das substâncias-teste utilizadas nos bioensaios	39
3.2.1	Substância-teste Roundup	39
3.2.2	Substância-teste Gramoxone	40
3.2.3	Substância-teste Cefanol	41
3.2.4	Substância-teste Isatalonil 500 SC	41
3.2.5	Substância-teste Dithane PM	42
3.3	BIOENSAIOS COM MICROALGAS	43
3.3.1	Preparo de soluções-estoque (concentrações de 10.000 – 1.000 – 100 e 10mg do ingrediente ativo/L) das substâncias-teste para os bioensaios com microalgas	44
3.3.2	Condições dos testes	49
3.3.3	Biomassa algácea	50
3.4	BIOENSAIOS COM MICROCRUSTÁCEOS	51
3.4.1	Dados biológicos do cultivo para <i>Daphnia magna</i>	51
3.4.2	Condições de cultivo dos organismos-teste	52
3.4.3	Preparo das soluções-teste dos cinco bioensaios	52
3.4.4	Condições dos testes	56
3.4.5	Avaliação da imobilidade	58
3.5	CÁLCULOS ESTATÍSTICOS DOS RESULTADOS OBTIDOS DOS BIOENSAIOS PARA MICROALGAS E MICROCRUSTÁCEOS	58
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	60
4.1	RESULTADOS DOS BIOENSAIOS PARA MICROALGAS	60

4.1.1	Produto Roundup	60
4.1.2	Produto Gramoxone	61
4.1.3	Produto Cefanol	62
4.1.4	Produto Isatalonil 500 SC	64
4.1.5	Produto Dithane PM	65
4.2	RESULTADOS DOS BIOENSAIOS PARA MICROCRUSTÁCEOS	66
4.2.1	Produto Roundup	67
4.2.2	Produto Gramoxone	68
4.2.3	Produto Cefanol	69
4.2.4	Produto Isatalonil 500 SC	71
4.2.5	Produto Dithane PM	72
4.3	DISCUSSÃO	74
5	CONCLUSÃO E RECOMENDAÇÕES	85
	REFERÊNCIAS	88
	ANEXOS	97

LISTA DE QUADROS

QUADRO 1 –	PREPARO DE SOLUÇÕES-TESTE DOS CINCO BIOENSAIOS PRELIMINARES	47
QUADRO 2 –	PREPARO DE SOLUÇÕES-TESTE DO BIOENSAIO DEFINITIVO DO PRODUTO ROUNDUP	47
QUADRO 3 –	PREPARO DE SOLUÇÕES-TESTE DO BIOENSAIO DEFINITIVO DO PRODUTO GRAMOXONE	48
QUADRO 4 –	PREPARO DE SOLUÇÕES-TESTE DO BIOENSAIO DEFINITIVO DO PRODUTO CEFANOL	48
QUADRO 5 –	PREPARO DE SOLUÇÕES-TESTE DO BIOENSAIO DEFINITIVO DO PRODUTO ISATALONIL	49
QUADRO 6 –	PREPARO DE SOLUÇÕES-TESTE DO BIOENSAIO DEFINITIVO DO PRODUTO DITHANE PM	49
QUADRO 7 –	PREPARO DE SOLUÇÕES-TESTE DO BIOENSAIO PRELIMINAR E DEFINITIVO DO PRODUTO ROUNDUP	54
QUADRO 8 –	PREPARO DE SOLUÇÕES-TESTE DO BIOENSAIO PRELIMINAR E DEFINITIVO DO PRODUTO GRAMOXONE	54
QUADRO 9 –	PREPARO DE SOLUÇÕES-TESTE DO BIOENSAIO PRELIMINAR E DEFINITIVO DO PRODUTO ISATALONIL 500SC	55
QUADRO 10 –	PREPARO DE SOLUÇÕES-TESTE DO BIOENSAIO PRELIMINAR E DEFINITIVO DO PRODUTO CEFANOL	55
QUADRO 11 –	PREPARO DE SOLUÇÕES-TESTE DO BIOENSAIO PRELIMINAR E DEFINITIVO DO PRODUTO DITHANE PM	56
QUADRO 12 –	MICROALGAS – TESTE PRELIMINAR / ROUNDUP	60
QUADRO 13 –	MICROALGAS – TESTE DEFINITIVO / ROUNDUP	61
QUADRO 14 –	MICROALGAS – TESTE PRELIMINAR / GRAMOXONE	61
QUADRO 15 –	MICROALGAS – TESTE DEFINITIVO / GRAMOXONE	62
QUADRO 16 –	MICROALGAS – TESTE PRELIMINAR / CEFANOL	63
QUADRO 17 –	MICROALGAS – TESTE DEFINITIVO / CEFANOL	63
QUADRO 18 –	MICROALGAS – TESTE PRELIMINAR / ISATALONIL 500SC	64
QUADRO 19 –	MICROALGAS – TESTE DEFINITIVO / ISATALONIL 500SC	64
QUADRO 20 –	MICROALGAS – TESTE PRELIMINAR / DITHANE PM	65
QUADRO 21 –	MICROALGAS – TESTE DEFINITIVO / DITHANE PM	66
QUADRO 22 –	MICROCRUSTÁCEOS – TESTE PRELIMINAR / ROUNDUP	67
QUADRO 23 –	MICROCRUSTÁCEOS – TESTE DEFINITIVO / ROUNDUP	67
QUADRO 24 –	MICROCRUSTÁCEOS – TESTE PRELIMINAR / GRAMOXONE	68
QUADRO 25 –	MICROCRUSTÁCEOS – TESTE DEFINITIVO / GRAMOXONE	69
QUADRO 26 –	MICROCRUSTÁCEOS – TESTE PRELIMINAR / CEFANOL	70
QUADRO 27 –	MICROCRUSTÁCEOS – TESTE DEFINITIVO / CEFANOL	70
QUADRO 28 –	MICROCRUSTÁCEOS – TESTE PRELIMINAR / ISATALONIL 500 SC	71
QUADRO 29 –	MICROCRUSTÁCEOS – TESTE DEFINITIVO / ISATALONIL 500 SC	72

QUADRO 30 – MICROCRUSTÁCEOS – TESTE PRELIMINAR / DITHANE PM	73
QUADRO 31 – MICROCRUSTÁCEOS – TESTE DEFINITIVO / DITHANE PM	73

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FOTO 1 – PANORÂMICA DA BACIA HIDROGRÁFICA DO RIO NHUNDIAQUARA	iv
FIGURA 1 – CICLO HIDROLÓGICO E COMPORTAMENTO DOS AGROTÓXICOS	26
MAPA 1 – BACIA HIDROGRÁFICA DO RIO NHUNDIAQUARA	29
FOTO 2 – PANORÂMICA DA DESEMBOCADURA DO RIO NHUNDIAQUARA	31
FOTO 3 – ASPECTO DE ÁREA AGRICULTÁVEL NA REGIÃO DE INFLUÊNCIA DA BACHIA NHUNDIAQUARA	35
FOTO 4 – PREPARO DE SOLUÇÕES	45
FOTO 5 – BIOENSAIOS COM ALGAS	50
FOTO 6 – INCUBADORA BIOLÓGICA – BIOENSAIOS COM MICROCRUSTÁCEOS	57
FIGURA 2 – MODELO CONCEITUAL DE FONTES, TRANSPORTE E EXPOSIÇÃO DE AGROTÓXICOS PARA A CADEIA TRÓFICA AQUÁTICA	76
FIGURA 3 – SEQÜÊNCIA DE TESTES EXIGIDOS PELO USEPA PARA REGISTRO DE SUBSTÂNCIAS QUÍMICAS (1983)	78

LISTA DE SIGLAS

ABNT – Associação Brasileira de Normas Técnicas
CEM – Centro de Estudos do Mar
Ceppa – Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos
Cetesb – Companhia de Tecnologia e Saneamento Ambiental do Est. de São Paulo
DIN – *Deutsche Institut Für Normung*
FAO – *Food and Agriculture Organization of the United Nations*
Iapar – Instituto Agrônômico do Paraná
Ibama – Instituto Brasileiro do Meio Ambiente
Ipardes – Instituto Paranaense de Desenvolvimento
IUCN – União Internacional para a Conservação da Natureza
MAA – Ministério da Agricultura e Abastecimento
MS – Ministério da Saúde
OECD – *Organisations Economic Cooperation and Development*
UAN – Unidades Ambientais Naturais
Usepa – *United States Environmental Protection Agency*

RESUMO

O interesse pelos efeitos adversos decorrentes da utilização dos agrotóxicos tem crescido rapidamente, sobretudo devido aos possíveis riscos ambientais para os diferentes tipos de ecossistemas aquáticos. A disponibilidade de água limpa tem sido reconhecida como a mais crítica de todas as questões de segurança humana que o mundo enfrentará no próximo quarto de século. Com este trabalho, propõe-se testar, por intermédio dos métodos reconhecidos internacionalmente no campo da toxicologia aquática, a toxicidade aguda de cinco agrotóxicos (Roundup, Gramoxone, Cefanol, Isatalonil 500 SC e Dithane PM) para os organismos-teste - *Selenastrum capricornutum* (alga) e *Daphnia magna* (microcrustáceo). Os resultados obtidos indicaram uma classificação moderadamente tóxica, exceto de um agrotóxico (cefanol) para o organismo-teste *Selenastrum capricornutum*, que indicou a classificação de um produto praticamente não-tóxico. A partir destas análises, procurou-se desenvolver uma abordagem ecossistêmica para a Bacia Hidrográfica do Rio Nhundiaquara em Morretes-Paraná, onde destacou-se a implicação resultante do sistema de utilização dos agrotóxicos nos possíveis efeitos sobre o meio ambiente aquático e o contexto crítico da legislação Federal de Agrotóxicos e afins. A necessidade de estudos multidisciplinares futuros se faz evidente para uma melhor compreensão acerca das interações relativas às dimensões ecológicas, socioeconômicas e culturais.

Palavras-chave: Agrotóxicos; Legislação; Bioensaios; Ecossistema Aquático; Ecologia Sistêmica.

ABSTRACT

The interests in adverse effects proceeding from the use of pesticides has been increasing rapidly especially due to the possible environmental risks to the different kinds of aquatic environments. The availability of clean water is being considered the most critical issue about human safety that the world will face in the next 25 years. This work intends to verify, through the internationally recognize methods in aquatic toxicology area, the acute toxicity level of five pesticides (Roundup, Gramoxone, Cefanol, Isatalonil 500 SC and Dithane PM) to the test organisms: *Selenastrum capricornutum* (algae) and *Daphnia magna* (microcrustacean). The results obtained indicate a reasonable toxic classification except for a pesticide (Cefanol) to the test organism *Selenastrum capricornutum*, which indicates a classification to a product almost non toxic. From these analysis, it was developed an ecosystemic approach to the watershed in Nhundiaquara River – Morretes-Paraná, that brings out the implications of the use of pesticides, its possible effects in the aquatic environment and the federal legislation of pesticides critical context. It's evident the necessity of further multidisciplinary studies, which would permit a better comprehension of the ecological, socio-economic and cultural dimensions interaction.

Key-words: Pesticides; Legislation; Bioassays; Aquatic Ecosystems; Systemic Ecology.

1 INTRODUÇÃO

Nos últimos trinta anos, intensificou-se no Brasil o uso de agrotóxicos. A utilização dos agrotóxicos no mundo, segundo informações de *Woodburn Associate*, da Escócia, cresceu 3,5 % durante 1996, a América Latina lidera no consumo dos agrotóxicos, com 16% de incremento em dólares. As conseqüências desta possível fonte de contaminação, tanto pontual como difusa, magnificam-se por meio da cadeia trófica, podendo desta forma chegar à fauna íctica e ao homem (WORLD HEALTH ORGANIZATION - WHO, 1989).

A designação *agrotóxicos* já é marco conceitual conflitante. Eixos distintos como as indústrias produtoras designam a expressão *defensivos agrícolas* enquanto ecologistas e ambientalistas utilizam o termo *agrotóxico*.

De acordo com a *Food and Agriculture Organization of the United Nations* (FAO, 1980), agrotóxicos, defensivos agrícolas, praguicidas e até biocidas são denominações dadas a substâncias químicas, naturais ou sintéticas, destinadas a matar, controlar ou combater de algum modo as pragas, no seu sentido mais amplo: tudo aquilo que ataca, lesa ou transmite enfermidades às plantas, aos animais e ao homem.

Para avaliar o risco dos resíduos de agrotóxicos em alimentos, determinar as doses diárias aceitáveis para o homem e as tolerâncias, os resultados das pesquisas toxicológicas devem ser examinados em conjunto com os resultados das pesquisas agrícolas e dos inquéritos alimentares, em virtude do estreito entrelaçamento dos problemas. É fundamental que estas pesquisas sejam ampliadas e incrementadas.

Com o estudo aqui apresentado, procurou-se aplicar métodos já estabelecidos internacionalmente para a avaliação da toxicidade aguda em duas espécies de organismos aquáticos: uma de microalga (*Selenastrum capricornutum*) e uma de microcrustáceo (*Daphnia magna*). Como substâncias-teste, foram utilizados cinco agrotóxicos freqüentemente consumidos na região do município de Morretes, no Estado do Paraná.

Com os resultados obtidos, sugere-se alguns indicativos de estudos mais aprofundados para avaliação de risco ambiental pelo uso de agrotóxicos na região.

1.1 OBJETIVO GERAL

O principal objetivo deste estudo é avaliar a toxicidade aguda para organismos aquáticos, uma espécie de microalga – *Selenastrum capricornutum* – e uma espécie de microcrustáceo – *Daphnia magna* – utilizando-se como substâncias-teste cinco agrotóxicos utilizados na região de Morretes, Paraná, na Bacia do Rio Nhundiaquara.

1.2 OBJETIVOS DECORRENTES OU SECUNDÁRIOS

- a) Aplicar métodos já estabelecidos internacionalmente no uso dos bioensaios na avaliação da toxicidade aguda para organismos aquáticos.
- b) Estabelecer o contexto da Legislação Federal de Agrotóxicos e afins.
- c) Destacar as implicações decorrentes do sistema de utilização de um agrotóxico para possíveis efeitos sobre o meio ambiente aquático na Bacia do Rio Nhundiaquara.

2 REVISÃO DE LITERATURA

O conceito de desenvolvimento sustentável é bastante recente. Surgido na década de setenta, aparece nos relatórios da *União Internacional para a Conservação da Natureza* (IUCN) – em suas iniciais inglesas –, no início dos anos oitenta, sendo posteriormente popularizado pelo chamado *Relatório Brundland* (*Nosso Futuro Comum*), de 1987 (www.intelecto.net/cidadania/meio-5.html).

Rapidamente assimilado, este conceito está no centro de todo o discurso ecológico oficial, sem que haja um mínimo de consenso quanto à sua significação e sem que sequer se tenha colocado a questão, no entanto crucial, se ele tem algum sentido no plano institucional e econômico atual, o capitalismo.

Vivemos então um dilema!

O extraordinário e rápido crescimento populacional do *Homo sapiens*, associado a seu apetite voraz da dominância planetária e do consumo de seus recursos naturais, fazem que sistemas biológicos e químicos do planeta Terra entrem num estado de desequilíbrio (GARRET, 1994).

A expansão das atividades agrícolas e industriais fez emergir necessidades de planos de manejo das atividades antropogênicas e do meio ambiente natural; a revolução ambiental procura agora soluções de gerenciamento para seus modos estruturais e funcionais.

Muitos problemas de poluição ambiental se relacionam diretamente com as atuações políticas, oriundas das administrações governamentais. Informações a respeito dos efeitos de agentes químicos em ecossistemas naturais são altamente polêmicas e cheias de incertezas.

A sociedade, contudo, tem acumulado cada vez mais conhecimento, de modo que agora é tempo de dar viabilidade a ações efetivas para se prevenir futuras degradações.

Para CASTORIADIS (1992), ao buscar-se um desenvolvimento sustentável, hoje se está, ao menos implicitamente, pensando em um desenvolvimento capitalista sustentável; ou seja, uma sustentabilidade dentro do quadro institucional de um capitalismo de mercado. Entretanto, não se colocando a questão básica quanto à própria possibilidade de uma tal sustentabilidade, o conceito corre o risco de tornar-se vazio, servindo apenas para dar uma nova legitimidade à expansão

insustentável do capitalismo. De fato, uma sociedade sustentável depende antes de tudo de uma reconstrução política consistente da sociedade contemporânea.

Do ponto de vista da biosfera, a Terra não só é um sistema aberto em termos energéticos ou um sistema estável na perspectiva material, já que a sustentabilidade da biosfera se baseia justamente na sua capacidade de reciclagem material, opondo-se à entropia material (GEORGESCU-ROEGEN, 1971; GOLDSMITH, 1992).

Quando falamos de desenvolvimento sustentável, temos que considerar não só os aspectos materiais e econômicos, mas o conjunto multifacetado que compõe o fenômeno do desenvolvimento: seus aspectos políticos, sociais, culturais e físicos. Esses fatores e seus respectivos equilíbrios repousam sobre fatores qualitativos, como o são os graus de coesão e harmonia social, questões como cidadania, valores éticos e morais, o grau de polarização social e política, os valores da sociedade e o nível entrópico do sistema.

É uma característica da ciência contemporânea a ênfase nos aspectos quantitativos e o seu desprezo pelos aspectos qualitativos, quando são justamente estes os mais essenciais.

A própria vida se caracteriza por sua essencialidade qualitativa, como o são a busca de bem-estar coletivo e individual. Em outras palavras: a qualidade não é redutível à quantidade nem em um sentido nem em outro. Ela não pode ser traduzida para um indicador quantitativo nem pode ser induzida a partir da manipulação de indicadores quantitativos que dirijam as ações sociais.

A vida se afirma como capacidade de resistência frente à degradação entrópica. Já a biosfera assegura a sua sobrevivência pela busca constante de estabilidade e da manutenção frente à esta ação e à manutenção de baixa entropia.

O novo paradigma pode ser chamado de uma visão de mundo holística, que concebe o mundo como um conjunto integrado e não como uma coleção de partes dissociadas (CAPRA, 1996). A percepção ecológica profunda reconhece a interdependência fundamental de todos os fenômenos e o fato de que, na condição de indivíduos e sociedades, estamos encaixados nos processos cíclicos da natureza; isto é, somos dependentes desses processos.

Entretanto, a ecologia linear cartesiana vê os seres humanos como situados acima ou fora da natureza, como a fonte de todos os valores, de modo que atribui apenas um valor instrumental, ou de “uso”, à natureza: típica visão do caráter antropocêntrico.

De acordo com BATESON (1979), as propriedades das partes não são propriedades intrínsecas mas só podem ser entendidas conforme um contexto de todo maior. Desse modo, o pensamento sistêmico é um pensamento *contextual*. Uma vez que explicar coisas considerando o seu contexto significa explicá-las considerando o seu meio ambiente, também pode-se dizer que todo pensamento sistêmico é ambientalista.

Conforme JØRGENSEN *et al.* (1992), para a maioria dos cientistas, essa visão do conhecimento como uma rede sem fundamentos firmes é extremamente perturbadora. Porém, à medida que a abordagem de rede sistêmica se expande por toda a comunidade científica, a idéia do conhecimento como uma rede encontrará, sem dúvida, aceitação crescente.

O novo conceito proposto, que começa a ser aceito pelos grandes ecólogos e que já conquistou vanguarda do movimento ecologista, é o *Conceito de Gaia* (LOVELOCK, 1979). Nessa perspectiva, a ecosfera não é um simples sistema homeostático, automático, químico-mecânico. O planeta Terra, em definitivo, é autolimitado, autogerado e autoperpetuante: um ser vivo, um ente vivo com identidade própria, o único de sua espécie que conhecemos.

Um exemplo prático desta complexidade pode ser verificado no mundo das plantas, em que a fertilização levou a intrincados padrões de co-evolução de flores, de insetos e de pássaros.

Em particular, nunca se pôde esclarecer absolutamente se a lógica linear poderia ser utilizada para a descrição de padrões e eventos biológicos. No entanto, está bastante claro que ela é inaplicável, pelo menos na descrição de sistemas complexos (HASTINGS *et al.* 1993; STRASKRABA, 1995).

Os princípios básicos da Teoria Sistêmica, de acordo com JØRGENSEN *et al.* (*op.cit*) são onze, a saber:

1. **Ecosistemas conservam energia e matéria:** nem a energia nem a matéria são criadas ou destruídas; uma forma se converte em outra. O orçamento de energia e

matéria em um ecossistema é fundamental. O fósforo em lagos não desaparece. Usualmente, aloja-se no sedimento, mas sofre processos de liberação (*internal load*).

2. Ecossistemas estocam informações: na natureza as informações são estocadas em estruturas físicas, químicas e biológicas. Nos organismos é o pool do código genético. Este é um mecanismo de resguardar a memória do ecossistema frente a perturbações.

3. Ecossistemas são sistemas abertos: são abertos para energia, matéria e informações. Os ecossistemas funcionam na dependência contínua de inputs de energia, mas também do input de matéria da crosta terrestre.

4. Ecossistemas apresentam a capacidade de adaptação e auto-organização: as adaptações em função das condições desfavoráveis podem ser rápidas em organismos individuais, populações e associações. A capacidade de auto-organização, reestruturação do meio é evidente na composição de espécies quando os fatores internos e externos passam a ser limitantes.

5. Ecossistemas são coerentes: as grandes interdependências simultâneas de fatores bióticos e abióticos produzem um mundo coerente. A representação popular desta coerência é a teoria de Gaia.

6. Ecossistemas são mediados por inúmeros processos de retroalimentação: são, na realidade, uma rede de trabalho trófico.

7. Ecossistemas apresentam a capacidade de homeostase: a manutenção da integridade da saúde e do estado de equilíbrio numa ampla extensão de condições. Contudo, existem limites de assimilação desta integridade. Forçados estes limites, ocorrem quebras do funcionamento harmônico.

8. Ecossistemas são sistemas constrangidos: externamente – pelos processos físicos, energia solar/vegetação, tipo do solo, taxas de precipitação pluviométrica; internamente – por inter-relações com os organismos. Um organismo não pode crescer infinitamente, os mecanismos de regulação populacional são acionados. Um exemplo é o crescimento da biomassa algal.

9. Ecossistemas são sistemas diferenciados: a diferenciação ocorre principalmente de acordo com os distintos modos de captação de nutrientes, de acordo com o status social dos indivíduos; por exemplo, dentro de uma manada animal, os reprodutores. Os tamanhos individuais dos organismos são agentes de diferenciação decisivos para muitas características fisiológicas e ecológicas, taxas de respiração, amplitude de distribuição. Este processo estabelece uma hierarquia nas redes tróficas.

10. Ecossistemas são sistemas dissipativos: trata-se de meios de dissipação contínuos por degradação da energia e matéria para altos e baixos níveis, para mais ou menos formas organizadas. Um exemplo clássico dissipativo são os processos de respiração dos organismos durante a existência viva até a morte. A dissipação requer forças de manutenção da ordem e das estruturas.

11. Ecossistemas são sistemas em crescimento: o processo antientropic é o crescimento, a expansão durante a formação de novas estruturas criadas a partir da energia dissipada. Codificadas e reestruturadas as informações genéticas, passam a regular os processos de auto-organização. A sucessão ecológica é um bom exemplo desta adaptação.

Destes princípios, constata-se que na linguagem da ecologia de ecossistemas complexos a natureza tem características de associação, interdependência, solidariedade e complementaridade. Ao mesmo tempo, apresenta características de parasitismo, concorrência, oposição, antagonismo e destruição, ou seja: o caos (JØRGENSEN, 1992; KAWANABE *et al.*, 1990).

A degradação ambiental é o resultado da demanda de alta entropia – entendendo a entropia como uma medida de desordem –, o que induz a comportamentos complexos de auto-organização. Assim, a persistência temporal em sua relação com a magnitude da probabilidade de extinção dos recursos naturais, sobretudo dos recursos hídricos, acaba evidenciando riscos concretos de escassez da água potável para o século 21.

A atual crise ecológica é apenas o reflexo das contradições do caráter insustentável do mercado capital globalizado. Dessa forma, discutir a questão ecológica, sem discutir os fundamentos materiais, institucionais e culturais da nossa sociedade, resulta em um discurso vazio. Enquanto a lei da entropia aponta para os limites materiais e energéticos, o capital aponta para uma necessidade inerente de expansão infinita. Enquanto a entropia aponta para uma questão qualitativa, o desenvolvimento do capitalismo é orientado e sancionado pelas regras quantitativas do mercado.

A sociedade contemporânea, lançada no vazio da banalização e da massificação cultural, encontra-se perdida na aceleração do tempo histórico que lhe retira os pontos de apoio capazes de servir de base para a reflexão. É, no entanto, nos desequilíbrios ecológicos que a crise se manifesta de forma mais dramática e espetacular, ameaçando tornar-se a principal preocupação tecnocrática contemporânea.

Para JUNG (1992), é ilusório imaginar que o homem possa dominar e controlar a natureza se ele não foi capaz de controlar e enxergar a sua própria natureza. Chamando a atenção para os fatores inconscientes da psique humana, a base arcaica da nossa mente e assim das nossas emoções e nossas ações, Jung aponta para os riscos de uma evolução voltada para fora, desprezando os fatores internos:

Nosso intelecto criou um novo mundo que domina a natureza e ainda a povoou de máquinas monstruosas. Essas máquinas são tão incontestavelmente úteis que nem podemos imaginar a possibilidade de nos descartarmos delas ou de escapar à subserviência a que nos obrigam. O homem não resiste às solicitações aventureiras de sua mente científica e inventiva nem cessa de congratular-se consigo mesmo pelas suas conquistas. Ao mesmo tempo, sua genialidade revela uma misteriosa tendência para inventar coisas cada vez mais perigosas, que representam instrumentos cada vez mais eficazes de suicídio coletivo.

Ignorando-se os níveis de interdependência entre esses diferentes aspectos, a preocupação ecológica ameaça desviar a discussão de outros temas, como o dos desequilíbrios nas relações de poder econômico e político; as relações de dependência internacional e a própria lógica de um sistema que gera uma minoria de privilegiados às custas de uma maioria que, não tendo acesso aos frutos materiais do sistema, resigna-se em usufruir seus lados negativos: as condições de trabalho subumanas, a poluição, a vida na periferia das grandes metrópoles, a violência, a degradação social, as condições de alienação e desencaixamento social. Porém, será que, não discutindo estas questões, alguma forma de sociedade sustentável é possível?

Para ALPHANDÉRY *et al.*(1992), pode-se traduzir, então, que o sistema humano e sua economia estão baseados em uma contabilidade de não-equilíbrio, que majoritariamente ignora os custos ambientais e favorecem a diminuição do capital dos sistemas naturais para satisfazer as necessidades da presente geração.

O amplo papel desempenhado pelos corpos hídricos faz com que grandes áreas estejam conectadas e influenciando-se mutuamente. Esses corpos são mais que simples veículos para as mais diferentes substâncias: eles interagem, alterando suas estruturas e modos de ação.

Os efeitos das perturbações oriundas dos agentes químicos estão intimamente relacionados aos processos físicos, químicos e biológicos naturais nos diferentes ecossistemas, sobretudo aqueles que sustentam a sociedade contemporânea; ou seja, agroecossistemas, ecossistemas florestais e ecossistemas aquáticos continentais e marinhos (MÜHLHAUSER, 1994).

A água é a essência da vida!

Como bem sabemos, a vida na Terra ocorre numa fina camada de solo, ar e água – o meio inorgânico – que fornece os componentes abióticos que nutrem e facilitam as relações entre os componentes bióticos formando os ecossistemas. Dos componentes abióticos da biosfera, a água é o mais abundante nos seres vivos e representa a maior parte da superfície da Terra, sendo um dos grandes reguladores do clima. Sabemos, porém, que muitas atividades humanas vêm comprometendo a qualidade da água, tanto a superficial quanto a subterrânea, que tem recebido

grande quantidade de resíduos industriais, orgânicos e agrícolas como os agrotóxicos e fertilizantes (FRITZSON, 1999).

A disponibilidade de água limpa está sendo reconhecida como a mais crítica de todas as questões de segurança humana que o mundo enfrentará no próximo quarto de século; dois terços da população mundial estarão em regiões com problemas de abastecimento. Cerca de 220 grandes reservas de água na Terra ficam em regiões de fronteiras (WOLFF, 1999). Existe uma deterioração crescente da água. Ela está se valorizando pela escassez.

A crise do abastecimento da água está crescendo assustadoramente. Isto se manifesta em numerosos desafios demonstrados em vários tópicos para o problema: incremento da escassez da água potável, deteriorização da qualidade da água, fragmentação do manejo da água, nacionalização e globalização, declínio das finanças para alocação de recursos para o setor hídrico, etc. (ABU-ZEID, 1998).

Pode-se dizer que a água doce é o mais importante recurso da humanidade. À escala mundial, o que inibe a expansão da agricultura e o povoamento de vastas regiões, é a insuficiência de água. À escala local, os recursos hídricos determinam a localização de certas indústrias, como a geração de energia. Em contraponto, antigamente, o estabelecimento de povoações estava em relação estreita com a localização de rios e fontes.

Do ponto de vista humano, as limitações impostas pela água são suprimento insuficiente (desertos, estiagem) ou demasiado (pântanos, inundações). Em parte, foi por causa da absoluta importância da água potável que a alteração na sua ocorrência no tempo e no espaço provocou as primeiras tentativas do homem para modificar o ambiente natural. Na verdade, o desenvolvimento da agricultura e da sociedade organizada sempre esteve vinculado ao controle da água, especialmente para irrigação (WHITE, 1998).

Por sua vez, a interferência no ciclo hidrológico a cada dia está se acentuando, o grau de interferência aumentou de maneira assustadora; atualmente, são poucos os sistemas de drenagem, no mundo inteiro, que têm caráter inteiramente natural. Embora o controle dos sistemas hidrológicos seja maior nos países desenvolvidos, as modificações inadvertidas dos mesmos sistemas são

universais, em geral por se passar a utilizar a terra de outra maneira (SUMMERTON, 1998).

As modificações dos rios e da água subterrânea correspondem habitualmente a tentativas deliberadas de melhorar os recursos hídricos de determinada área, em contraste com as alterações muitas vezes inadvertidas das armazenagens e transferências da superfície e do solo. Ainda que a extração de água subterrânea esteja em rápida expansão, sobretudo nas regiões semiáridas, a manipulação direta de rios ou mesmo de sistemas hidrográficos inteiros ainda representa o mais profundo impacto que o homem provoca no ciclo hidrológico. Os rios são usados para várias finalidades, das quais o suprimento de água é apenas uma, e as maneiras como se tem procedido a sua alteração refletem essa diversidade de funções (SERAGELDIN, 1998).

A função natural dos cursos de água é a transmissão da água provinda de várias fontes para o nível de base regional, regra geral, o mar. Embora os rios sejam basicamente mecanismos de transferência, também apresentam limitada capacidade de armazenagem, que cresce muito se parte do curso é formada por lagos naturais.

A descarga da maior parte dos rios varia através do tempo, dependendo do nível de entradas fornecidas pela água subterrânea, pela água do solo e pelo fluxo superficial. Em termos humanos, esta variação de fluxos significaria, num extremo, inundações; no outro, escassez de água (PAULA LIMA, 1986).

A intervenção humana em sistemas hidrográficos normalmente tem a ver com um ou mais dos seguintes motivos: regularização da descarga, armazenagem de água, aumento do fluxo total, extração de água ou alteração do canal dos rios (BJERREGAARD, 1998).

Em junho de 1992, no Rio de Janeiro, a Conferência das Nações Unidas para o Meio Ambiente e Desenvolvimento discutiu as necessidades de reformas emergenciais para o setor hídrico. No capítulo 18 da Agenda 21, ficou definida a seguinte posição da Conferência:

A sustentabilidade da produção de alimentos depende invariavelmente da eficiência do uso e práticas de conservação da água, consistindo preliminarmente o desenvolvimento de planos de manejo para irrigação, suprimento de água com qualidade para os organismos que compõem os diferentes tipos de ecossistemas

aquáticos e os ecossistemas agroflorestais. A segurança da produção de alimentos é prioridade para muitos países, e a agricultura não tem aplicado programas para preservar a água para outros fins. O desafio é o desenvolvimento e o uso de tecnologias para preservar os recursos hídricos.

Para PAASIVIRTA (1991), a poluição química é uma das mais pronunciadas consequências da industrialização. Desde 1500 a.C., são conhecidas substâncias praguicidas utilizadas nas lavouras. É desta época a mistura de inseticidas e repelentes à base de plantas, que aparecem em papiros. Os egípcios e os romanos usavam enxofre e anidrido sulfuroso para este mesmo fim.

O período entre a Primeira e a Segunda Guerras Mundiais foi de grande importância para a história dos praguicidas, pois nesta época surgiram os compostos de flúor e a rotenona. Nesse período, começou a ser usado também o Verde de Paris (acetoarseniato de cobre) e os compostos *dinitro* e *tiocianetos*. Durante a Segunda Guerra Mundial, devido à procura de produtos sintéticos para fins bélicos, surgiram os *hidrocarbonetos clorados*, o *DDT*, na Suíça, e o *BHC*, na França e na Grã-Bretanha.

Depois da guerra criaram-se clorados mais tóxicos, como o *Dieldrin* e *Aldrin*. Na Alemanha, os fosforados compostos de alta toxicidade, como o *TEPP* e o *Paration*, foram criados como resultado de investigações realizadas em 1940. Posteriormente, foram produzidos agrotóxicos de largo espectro, tais como *Malation*, *Diazinon* entre outros (CIÊNCIA HOJE, 1986).

Cronologicamente, segundo seu aparecimento e desenvolvimento, os agrotóxicos podem ser assim caracterizados segundo BATISTA (1989), em:

- 1.^a geração – inorgânicos: (enxofre, arsênio, fluoretos), orgânicos vegetais: (nicotina, piretrinas naturais, rotenona) e orgânicos minerais: (óleos minerais).
- 2.^a geração – orgânicos sintéticos: clorados (BHC, DDT, aldrin, dodecacloro, clorofosforados, dichlorvos e chlorpyrifus), fosforados: (não-sistêmicos – malathion e parathion, sistêmicos – disulfoton e monocrotofos), carbamatos: (não-sistêmicos – carbaryl e metomyl, sistêmicos – aldicarb e carbofuran), piretroides: (deltametrina, permetrina e fenvalerate), fumigantes: (fosfina e brometo de metila).
- 3.^a geração – microbianas: (fungos – *Metarhizium misopliae*, bactéria: *Bacillus thuringiensis* e vírus: *Baculovirus anticarsia*), feromônios: (goosyplure e grandlure).
- 4.^a geração – hormônios juvenis: (diflubenzuron, methoprene, hydroprens e juvabiona).
- 5.^a geração – antihormônios: (vegetal – precocenos e microorganismos – lactonas).

Quase todos os agrotóxicos de primeira geração já não são mais usados; dentre as exceções, cita-se o enxofre.

Os agrotóxicos de segunda geração são ainda os mais usados; dentre estes, a maioria dos clorados foi eliminada, os demais são largamente empregados, com poucos casos de restrições.

Dentre os agrotóxicos de terceira geração, algumas formulações microbianas de fungos e bactérias são bastante conhecidas; os *feromônios* são mais específicos e indicados, principalmente para a técnica de confusão de machos.

Os agrotóxicos de quarta geração, como os *juvenóides*, atuam no processo de formação da cutícula do inseto, e, destes, o mais conhecido é o *diflubenzurion*.

Por fim, os agrotóxicos de quinta geração estão ainda em processo de desenvolvimento e prevê-se o seu uso futuro.

Os efeitos danosos desses agentes químicos podem ser altamente tóxicos para a maioria dos seres vivos. Estes compostos caracterizam-se pela solubilidade, volatilidade e toxidez, e pela capacidade de mutação quando são acumulados em tecidos orgânicos.

No organismo humano, os agrotóxicos podem causar anemia aguda, doenças na estrutura óssea, doenças teratogênicas e embriológicas. Além disso, interferem no funcionamento do sistema nervoso central e periférico (MORIFUSA, 1976; PASCHOAL, 1979; MOORE, 1984).

Pesquisas revelam, ainda, que a proporção de DDT nos seres aquáticos é muitas vezes maior do que a encontrada na água, o que prova seu efeito cumulativo ao longo da cadeia alimentar. Além disso, constatou-se a contaminação de alimentos que já haviam passado por complexos processos de industrialização (BARRETO *et al.* 1996).

Devido ao fato de não serem completamente seletivos, os agrotóxicos afetam também espécies não-alvo que estão presentes no ambiente. Assim que são aplicados na lavoura, seja por via aérea ou misturados ao solo ou às sementes, parte dos agrotóxicos atingirá seu objetivo, enquanto o restante poderá atingir organismos não-alvo como, por exemplo, vida selvagem, insetos predadores, microorganismos do solo e organismos aquáticos, podendo causar a redução do número de espécies (CASTILHO *et al.* 1996).

Estas questões fizeram vários países regulamentarem seu uso e sua produção com o objetivo de minimizar as consequências negativas (USEPA, 1990a; ABTEILUNG FÜR PFLANZENSCHUTZMITTEL UND ANWENDUNGSTECHNIK, 1993; ZAGATTO, 1993). Tal regulamentação veio para orientar governos e indústrias numa preleção mais avançada dos efeitos dos riscos adversos potenciais que pode ter o uso proposto de qualquer substância química, sobre o meio ambiente natural.

As diretrizes, isto é, os critérios para avaliar possíveis riscos ao meio ambiente dos usos propostos para os agrotóxicos, que fazem parte do processo de registros da FAO (1980), consideram os seguintes objetivos:

- a) Definir os requisitos fundamentais para prever os possíveis perigos para o meio ambiente.
- b) Destacar a importância do uso extensivo e do sistema de utilização de um agrotóxico para possíveis efeitos sobre o meio ambiente.
- c) Estudar que outras informações a mais dos requisitos básicos poderiam ser necessárias para avaliar os riscos ambientais.
- d) Esboçar um procedimento de registro rápido a uma entrega gradual de dados sobre os aspectos ambientais.
- e) Inserir a vigilância e observações dos efeitos ecológicos, que é uma atividade que, normalmente, não forma parte do processo de registro.
- f) Aproveitar as experiências dos atuais sistemas nacionais de registros e de outros organismos supranacionais, ao propor requisitos harmonizados e aceitáveis internacionalmente.
- g) Permitir a utilização destas substâncias químicas somente por pessoas treinadas, qualificadas (Ex. Alemanha e França).

O alarme do incremento dos agrotóxicos no meio ambiente deve ser tratado na sua integridade e, principalmente, com vistas à saúde dos ecossistemas aquáticos. Em 1989, estimava-se cerca de 63 mil compostos químicos em uso; do total destas substâncias no meio ambiente, incluem-se muitas altamente tóxicas e persistentes (PAASIVIRTA, 1991). A busca de informações sobre os efeitos das substâncias químicas no meio ambiente é intensamente polêmica e cheia de incertezas.

Embora o uso de organismos biológicos em testes de toxicidade já fosse adotado por quatro décadas, somente em 1984, quando a *U. S. Environmental Protection Agency (Usepa)* lançou um guia para análises de poluição, foi oficializado o reconhecimento da necessidade de se utilizar material vivo para se avaliar a toxicidade de substâncias químicas.

A afirmação da Agência de Proteção Ambiental Norte-Americana é de que em muitos casos toda a potencialidade tóxica de certos poluentes não pode ser identificada apenas por métodos químicos. Em tal situação, é factível examinar a toxicidade de efluentes e os efeitos individuais e coletivos dos poluentes utilizando métodos biológicos (KELLY & HARWELL, 1989).

Contudo, as informações químicas podem contribuir em inúmeras análises toxicológicas ambientais: dureza da água, pH, substâncias orgânicas dissolvidas. Substâncias químicas têm comportamentos diferenciados individualmente e em misturas (CASTILHO *et al.* 1997). Certos poluentes produzem efeitos tóxicos abaixo da capacidade da química analítica. Várias transformações ocorrem quando trata-se de múltiplas substâncias, mas organismos vivos integram todo o efeito toxicológico. Então as respostas biológicas e químicas não podem ser examinadas separadamente para a busca de informações toxicológicas (FAO, 1980)

Evidentemente, as necessidades de respostas biológicas e químicas são fundamentais nos estudos de risco ambiental (LANDIS *et al.* 1996; HENRIQUES *et al.* 1997). A habilidade de se detectar certos compostos e seus efeitos nas interações biológicas é um predicativo, mas se deve também considerar as falhas na detecção das interações químicas livres devido aos comportamentos específicos de certos compostos.

Resultados de estudo em laboratórios indicam, no caso dos metais, que duas ou mais destas substâncias podem ter efeitos toxicológicos distintos com a simples adição de uma ou mais substâncias, conforme pode ser demonstrado com (Cu e Cd) e (Cu e Ag) (VOYRER & HELTSHE, 1984).

Justificativas científicas para o uso de organismos vivos na detecção da toxicidade são inquestionáveis. Portanto, os bioensaios são métodos investigativos primordiais (KELLY & HARWELL, 1989).

Também conhecidos como testes de toxicidade, os bioensaios podem ser definidos como procedimentos nos quais as respostas de organismos-teste são utilizadas para detectar ou avaliar os efeitos de uma ou mais substância (APHA, 1985). Esses testes consistem, basicamente, na exposição de organismos a diferentes condições de teste visando, deste modo, a mensurar seus efeitos letais e/ou subletais.

As respostas consideradas em testes de toxicidade são os efeitos adversos causados pelos poluentes. Esses efeitos podem ser crônicos, como decréscimo da taxa reprodutiva e/ou de crescimento, alterações nas atividades locomotoras, respiratórias, cardíacas, histopatológicas, bioquímicas e teratogênicas.

A última meta em testes ecotoxicológicos é a de prever os efeitos das substâncias químicas ou de outras substâncias estressoras para os distintos ecossistemas. Para se prever o comportamento de um agente químico no meio ambiente, deve-se considerar a magnificação; ou seja, evolução, destino, transporte e efeitos destes agentes (BAILEY *et al.* 1996).

O potencial dos impactos de certos compostos químicos sobre os ecossistemas aquáticos e seus organismos depende, em primeiro lugar, das suas características; mas também da atenuação ou agravamento desse potencial pelas transformações devido às condições ambientais. O problema maior parece estar relacionado na determinação dos efeitos, que na obtenção dos mesmos. Não é possível extrapolar os resultados obtidos em laboratório para as condições de campo (LEVIN *et al.* 1989).

Para CAIRNS JR & PRATT (1989), o problema da extrapolação é devido aos vários níveis de organizações biológicas, sendo que os estudos laboratoriais contemplam poucas espécies.

Extrapolações são basicamente processos matemáticos para a estimativa de valores ou séries temporais; são, portanto, quantitativas. Em biologia, porém, elas podem ser semi-quantitativas ou exclusivamente qualitativas. Os exemplos podem ser observados em animais de laboratório para humanos, espécies de laboratório para a biota ecossistêmica, exposições químicas altas e baixas, agudas e crônicas e as exposições de substâncias químicas únicas ou múltiplas (SMITH, 1992). Muitas extrapolações ecotoxicológicas, em curso, contêm largos elementos de incertezas (HOWARTH, 1989).

Em geral, são utilizados os métodos padronizados em laboratório. Os mais comuns são os testes toxicológicos agudos e crônicos para espécies únicas originárias de culturas laboratoriais, em que o objetivo é a obtenção dos valores das concentrações subletais para os organismos-teste LC/EC₅₀ (concentração letal/efetiva que causa efeitos deletérios em 50% dos organismos testados em

bioensaios), ou a combinação de bioensaios de múltiplas espécies (microcosmos) em testes de sinais vitais (GIESY & GRANEY, 1989; NIEDERLEHNER *et al.* 1990; KUSK & NYHOLM, 1991; GIDDINGS *et al.* 1994; FILLMANN, 1996; GRUESSNER & WATZIN, 1996; MAURER & HOLT, 1996; SPAWN *et al.* 1997).

No contexto de risco ambiental pelo uso de agrotóxicos, os estudos de microcosmos são utilizados para integrar e corroborar para uma extensa rede de informações, derivadas dos testes convencionais de toxicidade em laboratório e o destino destas substâncias em ecossistemas naturais (SETAC-RESOLVE, 1992).

Estudos de multiespécies (microcosmos) têm como um dos objetivos compreender a interação entre os diferentes níveis tróficos. A questão é: qual a complexidade dos sistemas testes que possa demonstrar de forma mais realista os efeitos das taxas de risco em comunidades naturais?

A toxicidade das substâncias químicas pode ser avaliada, em parte, por testes ecotoxicológicos de diferentes complexidades (LAMPERT *et al.* 1989; SPAWN *et al.* 1997; MUNAWAR *et al.* 1991; MAURER & HOLT, 1996; SOLOMON *et al.* 1996).

A letalidade é uma resposta direta, facilmente observável e freqüentemente utilizada em estudos de toxicidade aguda (USEPA, 1991a). Todavia, testes de longa duração, envolvendo todo o ciclo de vida de uma espécie, são capazes de detectar efeitos crônicos subletais que não levam à morte do organismo mas podem alterar o seu desempenho reprodutivo, habilidade na captura de alimento etc..

O principal objetivo do teste crônico de toxicidade é o de estimar concentrações seguras ou, ainda, não efetivas para o lançamento de uma determinada substância ou efluente. A concentração segura pode ser definida como aquela que permite a propagação normal de organismos nos corpos receptores (USEPA, 1991b).

Nos testes de curta duração, a escolha de um bom material biológico é determinante para a obtenção de resultados consistentes. Este deve ser bastante sensível, de fácil obtenção e manuseio, além de apresentar respostas claras, estar disponível ao longo de todo o ano e ter importância ecológica.

Para as taxas de riscos ambientais associadas pelo uso de pesticidas, existe a necessidade de uma ordem na obtenção de dados (BASSFELD & SHOOK,

1997). O destino destas substâncias no solo e na água e os efeitos diretos e indiretos nos organismos aquáticos devem ser avaliados quando os dados laboratoriais sugerem que exista um potencial de efeitos ambientais (SOLOMON *et al.* 1996).

Toxicologia aquática é então o estudo qualitativo e quantitativo dos efeitos tóxicos das substâncias químicas, materiais antropogênicos e xenobióticos em organismos aquáticos (RAND & PETROCELLI, 1985). Informações de testes ecotoxicológicos têm uma variedade de aplicações, incluem-se decisões de corporações industriais, produtos em desenvolvimento, manufaturados e comercializados, como, também, a satisfação de requerimentos legais de registros, permissões de despejos de efluentes industriais, avaliações de dano ambiental e o manejo das atividades de mitigação ambiental.

A ciência multidisciplinar tem um longo caminho a percorrer para que seja reduzida a falta de conhecimentos em estudos de ecologia sistêmica. Portanto, o problema é quanto às decisões e às incertezas. A complementação das avaliações de risco ambiental e o risco do manejo são os principais desafios da ecotoxicologia.

2.1 CONTEXTO DA LEGISLAÇÃO FEDERAL DE AGROTÓXICOS E AFINS

A necessidade da produção de alimentos em larga escala, associada à produção e à aplicação dos agrotóxicos é uma necessidade. A utilização dos agrotóxicos no Brasil cresceu cerca de 44% em apenas 10 anos. Em 1997, as vendas chegaram a US\$ 2,161 bilhões e, apesar deste consumo, as perdas atribuídas às pragas e doenças não sofreram redução drástica no mesmo período (NUNES & RIBEIRO, 1999). Grande parte do crescimento do consumo se deve aos seguintes fatores: falta de informação básica dos agricultores, ausência de recomendações de uso após um diagnóstico preciso das reais necessidades de utilização, uso de equipamentos obsoletos e a pressão do setor de vendas.

A eficiência da proteção contra as pragas que afetam o setor agrícola requer cada vez mais uma grande diversidade de agrotóxicos.

O processo de registro e a homologação destes produtos são cada vez mais complexos. Para tanto, cada país institui comissões ou comitês multidisciplinares e organizações com características administrativas legais, para

avaliar o nível de periculosidade desses produtos, assim como os riscos que eles impõem ao homem e ao ambiente.

Desta forma, os registros de novos ingredientes ativos e formulações são procedimentos lentos que resultam grandes despesas. Contudo, é imprescindível conhecer os dados técnicos sobre as propriedades físico-químicas, a composição, os dados toxicológicos, ecotoxicológicos e agrônômicos, as medidas de precaução e emergência e os métodos de inativação destes compostos químicos.

A necessidade de gerar esses dados é questão altamente polêmica. As empresas produtoras, em grande parte, alegam que estas informações violam segredos industriais, que são passíveis de patentes.

A Lei Nº 9605/98 conhecida como a Lei de Crimes Ambientais destaca porém as responsabilidades administrativas, civis e penais pelos problemas causados por poluição em diferentes ecossistemas, no caso aqui apresentado os ecossistemas aquáticos (JUNGSTEDT, 1999).

A Legislação Federal de Agrotóxicos e Afins, utilizada pelo governo brasileiro, destaca o uso, o manejo e a toxicidade dos produtos, bem como medidas de proteção a usuários e consumidores. Pode-se dizer que a legislação brasileira para o setor é uma das mais rigorosas do mundo, sobretudo por apresentar modernidade, pois orienta a ocupação agrícola, a austeridade, ao estabelecer a rede de proteção à saúde pública e ao meio ambiente.

No que se refere às atribuições técnicas, o quadro de especialistas do Ministério da Agricultura fiscaliza, autoriza, acompanha pesquisas e contribui para a difusão dos dados para o setor.

Eis a Lei N.º 7.802, de 11 de julho de 1989:

Dispõe sobre a pesquisa, a experimentação, a produção, a embalagem e rotulagem, o transporte, o armazenamento, a comercialização, a propaganda comercial, a utilização, a importação, a exportação, o destino final dos resíduos e embalagens, o registro, a classificação, o controle, a inspeção e a fiscalização de agrotóxicos, seus componentes e afins, e dá outras providências.

Art. 1.º – A pesquisa, a experimentação, a produção, a embalagem e rotulagem, o transporte, o armazenamento, a comercialização, a propaganda comercial, a utilização, a importação, a exportação, o destino final dos resíduos e embalagens, o registro, a classificação, o controle, a inspeção e a fiscalização de agrotóxicos, seus componentes e afins, serão regidos por esta Lei.
(...)

Art. 5.º – Possuem legitimidade para requerer o cancelamento ou a impugnação, em nome próprio, do registro de agrotóxicos e afins, arguindo prejuízos ao meio ambiente, à saúde humana e dos animais:

I – Entidades de classe, representativas de profissões ligadas ao setor;

II – Partidos políticos, com representação no Congresso Nacional;

III – Entidades legalmente constituídas para a defesa dos interesses difusos relacionados à proteção do consumidor, do meio ambiente e dos recursos naturais.

§ 1.º – Para efeito de registro e pedido de cancelamento ou impugnação de agrotóxicos e afins, todas as informações toxicológicas de contaminação ambiental e comportamento genético, bem como os efeitos no mecanismo hormonal, são de responsabilidade do estabelecimento registrante ou da entidade impugnante e devem proceder de laboratórios nacionais ou internacionais.

§ 2.º – A regulamentação desta Lei estabelecerá condições para o processo de impugnação ou cancelamento do registro, determinando que o prazo de tramitação não exceda 90 (noventa) dias e que os resultados apurados sejam publicados.

§ 3.º – Protocolado o pedido de registro, será publicado no Diário Oficial da União um Resumo do mesmo.

(...)

Art. 14.º – As responsabilidades administrativas, civil e penal, pelos danos causados à saúde das pessoas e ao meio ambiente, quanto à produção, à comercialização, à utilização e ao transporte não cumprirem o disposto nesta Lei, na sua regulamentação e nas legislações estaduais e municipais, cabem:

a) ao profissional, quando comprovada receita errada, displicente ou indevida;

b) ao usuário ou prestador de serviços, quando em desacordo com o receituário;

c) ao comerciante, quando efetuar venda sem o respectivo receituário ou em desacordo com a receita;

d) ao registrante que, por dolo ou por culpa, omitir informações ou fornecer informações incorretas;

e) ao produtor que produzir mercadorias em desacordo com as especificações constantes do registro do produto, do rótulo, da bula, do folheto e da propaganda;

f) ao empregador, quando não fornecer e não fizer manutenção dos equipamentos adequados à proteção da saúde dos trabalhadores ou dos equipamentos na produção, distribuição e aplicação dos produtos.

No Brasil, a Portaria Normativa N.º 139, de 14 de março de 1990, deu competência ao IBAMA (Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis) para a emissão e renovação do registro de uso de agrotóxicos e afins, bem como para sua avaliação e classificação. Atualmente, a portaria que regula a emissão dos novos registros é a 84/96 (BRASIL, 1994).

No que se refere ao contexto legal do objetivo principal deste trabalho, a Portaria Normativa N.º 84, de 15 de outubro de 1996, do IBAMA, considera que na primeira etapa do registro destes compostos sejam avaliadas as características físico-químicas, toxicológicas e ecotoxicológicas, porém que a avaliação ambiental dos agrotóxicos, seus componentes e afins não possam se limitar à análise de resultados de ensaios laboratoriais (BRASIL, 1996).

Leva em conta, ainda, que a avaliação ambiental destas substâncias se dá por meio de um processo contínuo e dinâmico que inclui também o

acompanhamento e análise do comportamento e efeitos frente a diferentes condições edafoclimáticas e modo de aplicação que podem gerar informações que reforcem a utilização segura enquanto vigorar o registro.

Do mesmo modo, considera que um dos pressupostos da reformulação e modernização do Estado seja o partilhamento entre o governo e o setor produtivo da preservação, melhoria e recuperação da qualidade ambiental propícia à vida, visando a assegurar o **desenvolvimento sustentável**; e que os custos da manutenção da qualidade ambiental não sejam responsabilidade única do Governo.

Assim, por meio de tal Portaria Normativa, o IBAMA resolveu, conforme pode-se conferir, o seguinte:

Art. 1.º – Estabelecer procedimentos a serem adotados junto ao Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos naturais Renováveis – IBAMA, para efeito de registro e avaliação do potencial de periculosidade ambiental – (ppa) de agrotóxicos, seus componentes e afins, segundo definições nos incisos XX, XXI, XXII, do artigo 2.º, do Decreto Nº98.816.

Art. 2.º – Instituir o Sistema Permanente da Avaliação e Controle dos Agrotóxicos, seus componentes e afins, que compreende os seguintes subsistemas:

- a) classificação do potencial de periculosidade ambiental;
- b) estudo de conformidade;
- c) avaliação do risco ambiental;
- d) divulgação de informações;
- e) monitoramento ambiental;
- f) fiscalização.

Parágrafo Único – O sistema Permanente da Avaliação e Controle de Agrotóxicos, seus componentes e afins será aplicado a todos os produtores submetidos ao IBAMA à luz da legislação em vigor.

Art. 3.º – A classificação quanto ao potencial de periculosidade ambiental baseia-se nos parâmetros bioacumulação, persistência, transporte, toxicidade a diversos organismos, potencial mutagênico, teratogênico, carcinogênico, obedecendo à seguinte graduação:

Classe I – produto altamente perigoso

Classe II – produto muito perigoso

Classe III – produto perigoso

Classe IV – produto pouco perigoso

A classificação toxicológica para organismos aquáticos:

Classe I – produto altamente tóxico (CE_{50} mg/L < 0,1)

Classe II – produto moderadamente tóxico (CE_{50} mg/L 0,1- 10,0)

Classe III – produto pouco tóxico (CE_{50} mg/L 10,0 – 100,0)

Classe IV – produto praticamente não tóxico (CE_{50} mg/L >100,0)

Art. 4.º – Para efeito de classificação quanto ao ppa de agrotóxicos, seus componentes e afins o interessado deverá apresentar a documentação completa conforme estabelecida nos anexos, I, III, IV, V e X.

Art. 5.º – O estudo de conformidade visa a aferir informações apresentadas pela empresa, para efeitos de registro ou classificação do potencial de periculosidade ambiental, quando julgado necessário pelo IBAMA.

Art. 6.º – A avaliação do risco ambiental, conforme anexo VI, será realizada quando a classificação de periculosidade ambiental caracterizar a necessidade da geração de informações de campo, ou quando, a critério do IBAMA, for verificada a sua necessidade.

Art. 7.º – A divulgação de informações relativas à avaliação e ao controle ambiental visa a promover a educação ambiental, que estimule o uso seguro e eficaz, com o objetivo de reduzir os efeitos prejudiciais para o meio ambiente e de prevenir acidentes decorrentes de sua utilização imprópria.

Art. 8.º – As informações constantes nos anexos I, II, III, IV, V, e VI, são de propriedade da empresa registrante, para uso exclusivo da avaliação de seus produtos, não podendo ser utilizadas para avaliação de produtos de terceiros, salvo expressa autorização da proprietária, por um período de 5 (cinco) anos, contados a partir da publicação desta Portaria, ou da data de emissão do Certificado de Registro expedido, após a publicação desta Portaria.

Art. 9.º – O monitoramento ambiental visa a acompanhar os impactos ambientais regionais ou nacionais, com o objetivo de embasar a tomada de decisões no estabelecimento de políticas públicas relativas a agrotóxicos e afins, no tocante a melhoria da qualidade ambiental.

Em seu anexo IV, a Portaria estabelece quais testes toxicológicos e ecotoxicológicos são exigidos, a saber:

Parte C – Características físico-químicas (estado físico, aspecto, cor, odor, identificação molecular, grau de pureza, impurezas metálicas, ponto/faixa de fusão, ponto/faixa ebulição, pressão de vapor, solubilidade/miscibilidade, pH, constante de dissociação em meio aquoso, constante de formação de complexo com metais em meio aquoso, hidrólise, fotólise, coeficiente de participação n-Octanol/água, densidade, tensão superficial de soluções, viscosidade, distribuição de partículas por tamanho, corrosividade e estabilidade térmica e ao ar).

Parte D – Toxicidade para organismos não alvo (microorganismos, algas, organismos do solo, abelhas, microcrustáceos, peixes, bioconcentração em peixes e aves).

Aqui cabe ressaltar que os testes toxicológicos agudos, realizados nesta dissertação, referem-se a algas e microcrustáceos – espécies selecionadas e padronizadas internacionalmente –, aceitas e sugeridas na especificidade desta Portaria.

Parte E – Comportamento no solo (teste de biodegradabilidade, biodegradabilidade imediata, biodegradabilidade em solos, avaliação da mobilidade, avaliação da adsorção/dessorção).

Parte F - Toxicidade para animais superiores (toxicidade oral, inalatória, cutânea, ocular para ratos e coelhos).

Parte G – Potencial genotóxico, embriofetotóxico e carcinogênico (potencial genotóxico para procariontes e eucariontes).

2. 2 CONTAMINAÇÃO DOS SOLOS E AMBIENTES AQUÁTICOS POR AGROTÓXICOS

As informações sobre a frequência de resíduos nos solos e em ambientes aquáticos é um dos passos para se determinar a quantidade máxima de resíduos que provavelmente poder-se-á encontrar nesses locais, sobretudo quando o produto químico é utilizado conforme as recomendações reconhecidas como boas práticas agrícolas.

Devido às atividades antrópicas, muitos agrotóxicos são lançados no meio ambiente, dando início a uma série de reações químicas e biológicas, muitas vezes indesejáveis.

CAIRNS JR & PRATT (1980) evidencia que se um produto não foi ainda comercializado e, conseqüentemente, não pode ser encontrado no solo ou nos ambientes aquáticos, a concentração de exposição deve ser estimada. Portanto, é a *Concentração Estimada de Exposição* (CEE) que orienta as decisões no processo de avaliação de um produto.

Os modelos de cálculos de CEE se baseiam na aplicação direta do produto sobre a vegetação, no solo e na água, onde se estima a concentração máxima possível do produto no meio aquático (USEPA, 1986). A CEE considera o seguinte balanço de massa: $CEE=A/B$.

Onde:

A= taxa máxima de aplicação (libras de princípio ativo por acre) X tamanho da bacia de drenagem, em acre, X porcentagem de deflúvio superficial.

B= superfície da área do corpo (acre) X profundidade média (pés) X 43.560 pés²/acre X 62.36 libras/pés³.

Os agrotóxicos podem apresentar uma série de rotas que são passíveis de contaminar os solos e os ambientes aquáticos, e que a principal via de entrada é provavelmente o seu uso na agropecuária. Contudo, a forma de aplicação do produto terá diferentes destinos. As formas de aplicação mais comuns são as aplicações diretas no solo e a pulverização.

No solo, o processo de incorporação direta se dá por meio da introdução do produto seja ele uma emulsão, solução ou produtos granulados. A entrada dos

agrotóxicos no meio aquático, em função do uso nas áreas agrícolas, depende da dinâmica desses compostos no solo. A partir do momento da introdução do agrotóxico, ele poderá ser adsorvido em partículas do sedimento, permanecer na água subterrânea, ser adsorvido pelas raízes das plantas, ser percolado ou carreado pela água das chuvas ou sofrer decomposição química ou biológica. A mobilização do agrotóxico a partir do solo poderá ocorrer pelo carreamento através das águas das chuvas, por erosão, lixiviação ou volatilização (DORES & FREIRE, 1999).

Conhecimento dos dados físico-químicos é essencial para identificar essas substâncias, sendo que somente assim poderemos compreender o comportamento de um agrotóxico no meio ambiente.

Destacam-se os seguintes parâmetros físico-químicos na investigação de um agrotóxico qualquer (IBAMA, 1990b):

- estado físico, aspecto e cor (identificação do produto);
- espectro de absorção atômica (substâncias com metais em sua estrutura, informações sobre a fórmula molecular e estrutural);
- espectro de massa (identificar o produto, pode substituir a absorção atômica pelo padrão de quebra);
- grau de pureza do ingrediente ativo, de subprodutos de síntese, de impurezas, de inertes e outros componentes quando presentes, previsão da toxicidade das impurezas;
- ponto de fusão (substâncias sólidas, identificação);
- ponto de ebulição (substâncias líquidas, identificação);
- curvas de pressão de vapor (indicativo da probabilidade da faixa de transição líquido/gás, volatilidade da substância, indica persistência – caracterização do produto);
- solubilidade em água (mobilidade da substância, pré-requisito para testes de biodegradação e bioacumulação);
- coeficiente da participação n-octanol/água (potencial de bioacumulação);
- pH (previsão da alteração do pH de ambientes terrestres e aquáticos, corrosividade à pele);

- capacidade de formação de complexos na água (geralmente para produtos com metais);
- corrosividade (prever o tipo de embalagens em caso de acidentes);
- densidade de sólidos e líquidos (pré-requisito para testes em ambientes aquáticos, útil na estimativa da distribuição da substância entre água, solo e ar, avaliar juntamente com a solubilidade);
- distribuição de partículas por tamanho (produtos sólidos, pré-requisito para teste de toxicidade inalatória);
- hidrólise em função de pH (teste preliminar: se estável cinco dias não sofre hidrólise, instável teste definitivo produtos de hidrólise, degradação do produto em meio aquoso – persistência, teste relevante para prever persistência – controle da degradação abiótica);
- constante de dissociação em água;
- estabilidade térmica e ao ar (variação que o produto pode sofrer sem perder suas propriedades);
- viscosidade (teste relevante para prever a penetração dos fluídos no solo e seu efeito nas águas subterrâneas, análise conjunta com: umidade, miscibilidade e solubilidade);
- tensão superficial;
- lipossolubilidade.

Quanto à avaliação de transporte, pode-se identificar:

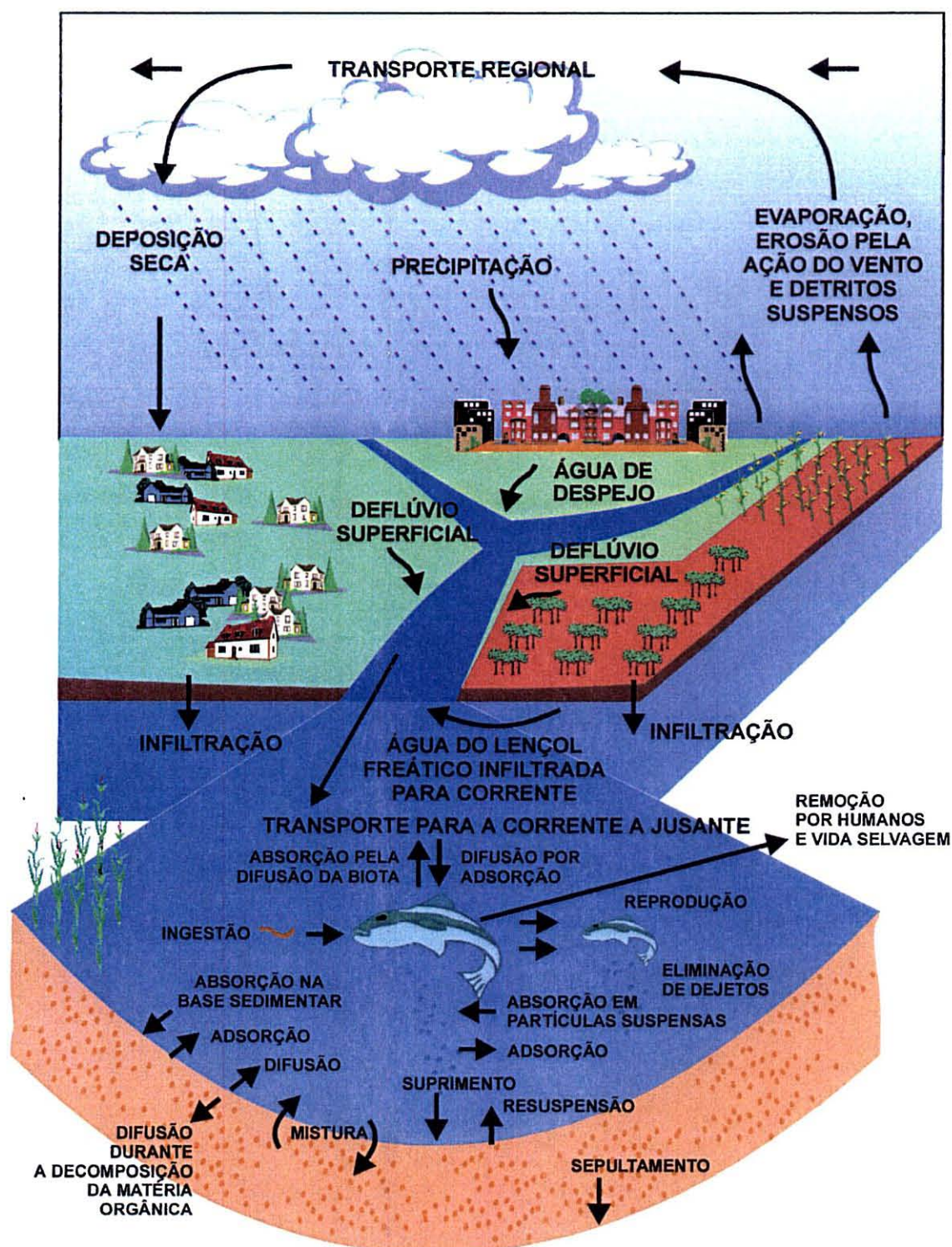
- processos de degradação (biodegradação, degradação química, fotólise, hidrólise);
- propriedades físico-químicas (solubilidade em água, ionização, meia vida hidrolítica, volatilidade);
- propriedades do solo (estrutura do solo, umidade do solo, matéria orgânica, pH da solução, presença de óxidos de Fe e Al);
- fatores climáticos (precipitação pluviométrica, evaporação, transpiração e temperatura);

- dinâmica de um agrotóxico no solo (decomposição microbiana, fotodecomposição, degradação química, volatilização, absorção por plantas, adsorção, transporte por escoamento superficial, lixiviação através do perfil do solo);
- potencial de contaminação do lençol freático (taxa de utilização anual do produto, tipo do solo, profundidade do lençol freático, contaminação por nitratos, pH do solo);
- redução da lixiviação (rotação de culturas, aumento da eficiência da aplicação, manejo integrado de pragas).

Desta forma, a avaliação ambiental dos agrotóxicos, seus componentes e afins não se limita à análise de resultados de ensaios laboratoriais, considerando que a avaliação ambiental destas substâncias se dá por meio de um processo contínuo e dinâmico que inclui também acompanhamento e análise do comportamento e efeitos frente a condições edafoclimáticas e modo de aplicação que podem gerar informações que reforcem a utilização segura enquanto vigorar o registro de um agrotóxico qualquer.

Levando-se em conta o ciclo hidrológico, é fundamental um bom entendimento quanto a suas ações no comportamento físico-químico e biológico dos agrotóxicos (MAJEWSKI & COPEL, 1995) (*Figura 1*).

FIGURA 1 – CICLO HIDROLÓGICO E COMPORTAMENTO DOS AGROTÓXICOS



Ciclo hidrológico esquematizando a magnificação dos agrotóxicos incluindo o comportamento no sedimento e na biota aquática. Figura adaptada de MAJEWSKI & COPEL (1995)

Um dos pressupostos da reformulação e modernização do Estado é o compartilhamento entre Governo e o setor Produtivo da preservação, melhoria e recuperação da qualidade ambiental propícia à vida, buscando assegurar o desenvolvimento sustentável; e que os custos da manutenção da qualidade ambiental não são responsabilidades únicas do Governo.

2.3 INSERÇÃO REGIONAL E CARACTERÍSTICAS FISIOGRAFICAS DA BACIA HIDROGRÁFICA DO RIO NHUNDIAQUARA

No Estado do Paraná, a planície costeira apresenta uma área de aproximadamente 5.000km², com altitudes médias variando de 4 a 10 metros compreendendo terraços e plataformas de abrasão. As ilhas são os pontos mais elevados da formação do complexo cristalino. O clima de acordo com a classificação de Koeppen é do tipo Cfa, sendo que a proximidade do mar faz com que ocorram elevados índices de umidade, com valores médios de 80% (BIGARELLA, 1946).

A porção oriental do Estado do Paraná apresenta cinco bacias hidrográficas que se encontram numa faixa pequena, correspondendo a cerca de 2,2% da área total do Estado (MAACK, 1968, citado por BIGARELLA, 1978). De acordo com BIGARELLA (1978), essas bacias são de importância no que se referem a reservas de água, bem como por apresentarem considerável energia erosiva potencial.

MAACK (1968) subdividiu a bacia hidrográfica do Atlântico em seis sub-bacias: Ribeira, Baía das Laranjeiras, Baía de Paranaguá, Baía de Antonina, Baía Guaratuba e Nhundiaquara.

Conforme MAACK (1981), os sistemas fluviais da porção atlântica do Estado do Paraná são geologicamente recentes, pois sua evolução ocorreu somente a partir do término do Neo-Cretáceo, princípio do Terciário. BIGARELLA (1978) menciona que esta drenagem apresenta a maioria dos rios com nascentes distribuídas pelas encostas da Serra do Mar e próximas aos topos, sob forma de riachos ou córregos.

Atribui-se de forma direta a origem pedogênese dos solos podzóicos; salinos, halófilos costeiros indiscriminados e as areias quartzosas aos processos de sedimentação marinha, baixa profundidade do lençol freático e o elevado índice de

precipitação. Ainda, no mosaico pedológico, ocorrem algumas áreas areno-argilosas (TROPPMAIR, 1990).

Os tipos de solos na área de influência da sub-bacia-hidrográfica do Rio Nhundiaquara podem ser classificados de acordo com o levantamento da EMBRAPA-IAPAR (1977), em: litólicos, indiscriminados de mangue, podzol, cambissol, podzólico vermelho-amarelo, latossolo vermelho-amarelo e os hidromórficos gleyzados indiscriminado.

Para BIGARELLA (1974), os riscos das ações antrópicas no ambiente da Serra do Mar – Planície Litorânea são devidos a suas prováveis suscetibilidades a impactos pelo uso e ocupação do solo.

Quanto às informações das características geológicas da área, o trabalho de CORNADARI & GIRARDI (1969) relata que num quadro geral a área é formada por rochas metamórficas e ígneas pré-cambrianas, designadas de embasamento cristalino. Sobre estas, e em pequena extensão depositam-se rochas vulcânicas e sedimentares do Eo-Paleozóico, denominadas Formação Guaratubinha.

O embasamento, além de ser cortado por diques mesozóicos, apresenta uma ampla cobertura sedimentar remanescente do Quaternário.

PIANARO & QUINTINO (1978) apresentaram um breve trabalho sobre as características físicas das bacias hidrográficas do leste paranaense com o objetivo de correlacioná-las à ocupação e à dinâmica fluvial. Os autores basearam suas pesquisas na declividade média, índices de densidade hidrográfica e densidade de drenagem, para a sub-bacia do rio Nhundiaquara. Eles constataram que a área apresenta uma declividade pronunciada que, somada aos altos índices pluviométricos, são considerados fatores que controlam tanto a acentuada dinâmica fluvial como as ações deposicionais de materiais sedimentares, nas adjacências e na própria baía de Paranaguá.

O Instituto Paranaense de Desenvolvimento (IPARDES, 1989) apresentou um macrozoneamento do litoral paranaense compatibilizando atividades produtivas ao potencial natural e à proteção ambiental. As características ambientais dos municípios do litoral foram enquadradas em UAN (Unidades Ambientais Naturais) que correspondem a porções do território com características físicas ou biológicas particulares que as diferenciam das unidades vizinhas; as quais foram apresentadas

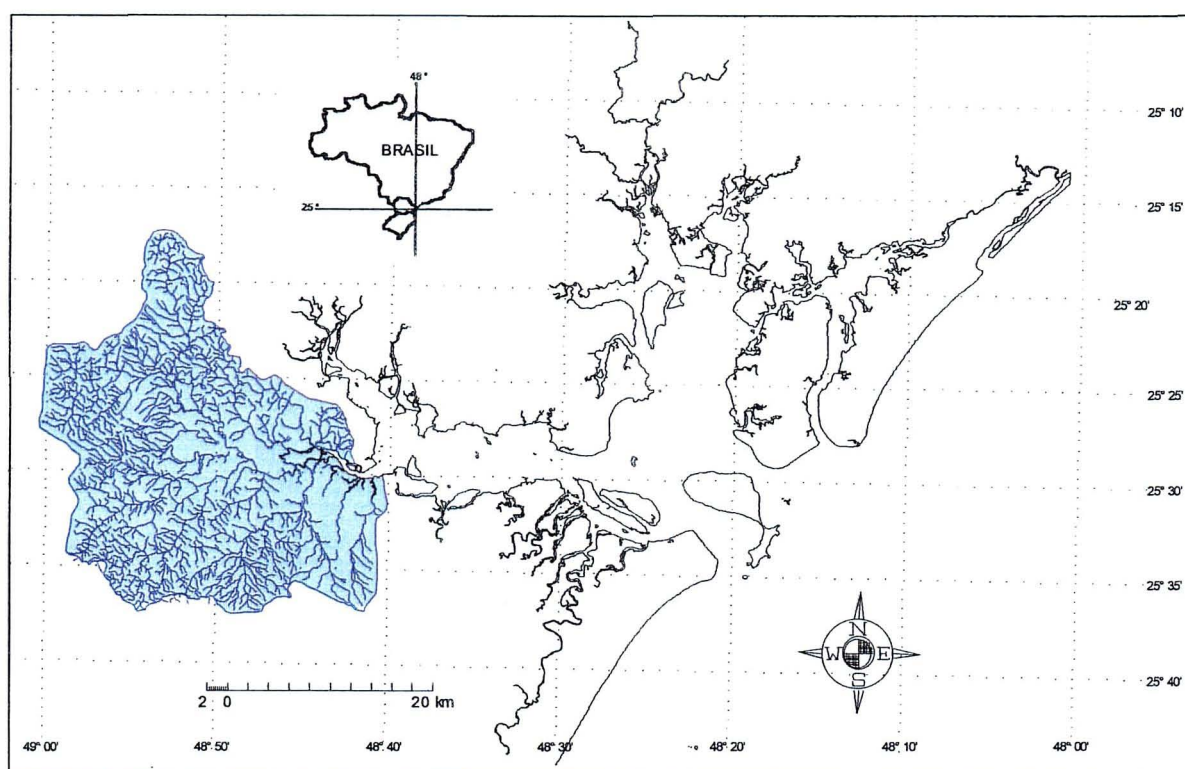
na forma de carta base em escala de 1:250.000. As áreas de interesse mencionadas foram duas sub-regiões ambientais:

- a) montanhosa litorânea: serra e planalto dissecado e
- b) planícies de restingas.

Já a MINEROPAR (1990) levantou e ordenou informações geológicas dos municípios de Antonina, Guaraqueçaba e Morretes, para servir como critérios de avaliação do aproveitamento econômico dos recursos minerais.

Ao integrar o conjunto de bacias que drenam suas águas para a baía de Paranaguá, a Bacia do Rio Nhundiaquara situa-se junto ao setor central do litoral paranaense, entre os paralelos 25.º 40' 55" e 49.º 37' 45" sul e os meridianos 48.º 40' 55" e 49.º 00' 41" oeste (*Mapa 1*).

MAPA 1 – BACIA HIDROGRÁFICA DO RIO NHUNDIAQUARA



Detalhe em azul evidencia a Bacia do Rio Nhundiaquara

A Bacia do Rio Nhundiaquara compõe uma área de 739,36km² e um perímetro de 196,2km, que abrange três regiões paisagísticas:

- a) o Primeiro Planalto, que apresenta altitudes em torno de 900m, cuja representatividade se restringe ao fato do Rio Ipiranga correr no planalto e desaguar na porção Atlântica;
- b) a serra do Mar, região de escarpa com altitudes superiores a 1.200m, que margeia toda a bacia nas porções norte, oeste e sul; e
- c) a Planície Costeira, que se estende pelo setor central numa altitude média de 10m.

Abrangendo praticamente o mesmo perímetro da bacia, encontra-se inserido o município de Morretes, cujo sítio urbano está localizado aproximadamente na altura do baixo curso da sub-bacia do Rio Nhundiaquara.

A delimitação hidrográfica da bacia hidrográfica do Rio Nhundiaquara é baseada em MAACK (1981) e compreende os seguintes rios; São João, Mãe Catira, Ipiranga, Marumbi, Rio do Pinto, Passa Sete, Sagrado, Sambaqui, São Joãozinho, Sapetanduva, entre outros pequenos tributários; além do próprio Nhundiaquara. Ela resulta principalmente da integração das micro-bacias do Rio São João, Mãe Catira e a do Rio Ipiranga. A micro-bacia do Rio São João faz confluência à margem esquerda do Rio Nhundiaquara e a da Mãe Catira com a margem direita.

Suas nascentes se encontram junto às serras dos Órgãos, ao norte, com altitudes médias de 800 m; da Graciosa, ao norte-noroeste, com altitudes que variam de 900 a 1.200m; da Baitaca, já no primeiro planalto, a nordeste, com altitudes de 1.110 – 1.300m, do Marumbi ao sul e sudeste, com médias altimétricas de 1.400m; e com os divisores da sub-bacia do Rio Sapetanduva a oeste, com altitudes médias de 200 – 300m.

Em campanha de inverno de 1997, para o estudo da caracterização da dinâmica hídrica da sub-bacia hidrográfica do Rio Nhundiaquara, realizada por MANTOVANELLI (1999), foram indicados os seguintes valores: vazão ($2,36 \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}$), material particulado em suspensão ($0,72 \text{ mg l}^{-1}$), carga de material particulado em suspensão ($232,60 \text{ g s}^{-1}$) e fluxo diário de material particulado em suspensão ($48,41 \text{ Kg Km}^{-2} \text{ dia}^{-1}$).

Com base na Carta Climática do Estado (IAPAR, 1978), a bacia do Rio Nhundiaquara se encontra inserida em três tipos climáticos conforme a classificação de Koeppen: o Cfb no planalto (onde: Cf indica clima subtropical úmido sem estação seca, b verão fresco, menor que 22°C em média), o Cfa na região serrana (onde: a corresponde a verão quente, maior que 22°C em média) e o Af na região costeira = clima tropical super-úmido, com temperaturas médias anuais maiores que 18°C .

NAIZOT (1993) indica que as chuvas das regiões litorâneas e serranas, onde se encontra a maioria dos componentes fluviais do Rio Nhundiaquara, apresentam médias anuais de: 2.715 mm. As chuvas se concentram nos meses de dezembro, janeiro e fevereiro, o que corresponde à estação do verão, e são menos intensas nos meses de junho, julho e agosto estação do inverno.

No geral, pode-se dizer que estas condições climáticas produzem uma elevada pluviosidade na região, que abastece o manto de intemperismo e o lençol freático, dando o caráter de perenidade aos canais de drenagem.

Por sua vez, o IPARDES (1989) registra que, quanto ao ambiente fitogeográfico, predominam as seguintes formações: pioneiras com influência fluvial, marinha e flúvio-marinha; florestas ombrófilas densas das terras baixas, submontanas, montanas, alto montanas e os campos de altitude. O ambiente fitoecológico a jusante da sub-bacia hidrográfica do Rio Nhundiaquara são os **Manguezais** (*Foto 2*).

FOTO 2 - PANORÂMICA DA FOZ DO RIO NHUNDIAQUARA



Formação dos bosques de manguezais na Foz da Bacia do Rio Nhundiaquara.

Quanto aos do estuário paranaense, MAACK (1968) chamou de formação *mangrove* o ecossistema que contrastava com as praias abertas das orlas das baías

do litoral. Esta vegetação é controlada principalmente pela hidrologia, fisiografia e clima, apresentando adaptações morfológicas, fisiológicas e reprodutivas que lhe permite colonizar um ambiente inundável, salgado, redutor, anóxico e com alterações geomorfológicas (LACERDA & SCHAEFFER-NOVELLI, 1992).

A importância dos manguezais é discutida em um grande número de trabalhos, que mostram o seu papel como filtros biológicos, habitat para várias espécies de organismos, produtores e exportadores de detritos, controlador da hidrodinâmica, erosão, como quebra-mares e quebra-ventos, estabilizadores da linha de costa (PANITZ & PORTO FILHO, 1995).

As espécies arbóreas mais comuns encontradas neste ambiente são: *Rhizophora mangle* (mangue vermelho), *Avicennia schaueriana* (mangue negro) e a *Laguncularia racemosa* (mangue branco).

Na porção mediana da sub-bacia hidrográfica do Rio Nhundiaquara encontra-se a **Floresta Ombrófila Densa de Terras Baixas**. Esta formação ocorre na planície litorânea um pouco acima do nível do mar em terrenos de origem no quaternário, formadas pelo processo erosivo das encostas das serras costeiras e pelas enseadas marítimas, a característica geomorfológica deste ambiente é o intercordão litorâneo-interiorizado (SISTEMA FITOGEOGRÁFICO, 19—).

Geralmente, o solo é arenoso ou glei orgânico. O ambiente é freqüentemente inundado de água (hidromorfia) de origem fluvial.

Quanto à ciclagem de nutrientes, a principal entrada é via atmosfera, de precipitação úmida e seca. A matéria orgânica é a principal responsável pela retenção de nutrientes do solo. Os mecanismos para potencializar a captação de nutrientes constituem extensa rede de raízes, decomposição lenta, grande e diversificado estrato de epífitas e o caráter perenifólio.

As espécies arbóreas deste ambiente são: *Tabebuia cassinoides* (caxeta), *Tapirira cupiúva* (copiúva), *Pera glabrata* (tabocuva), *Astrocaryum aculeatissimum* (brejaúva), *Callophyllum brasiliense* (guanandi), entre outras.

De acordo com o SISTEMA FITOGEOGRÁFICO (*op.cit*), na montante da sub-bacia do Rio Nhundiaquara destacam-se os seguintes ambientes fitoecológicos: a **Floresta de Submontana**, formada pela dissecação do relevo montanhoso e dos planaltos com solo coluvial transportado via rio, medianamente profundos, com

leque halovial. Desta forma, grande parte do material erodido das áreas mais altas formam o substrato, caracterizado pela presença de um solo mais profundo e rico em nutrientes.

Nestas áreas, é raro encontrar vegetação primária. Trata-se de uma região altamente alterada pelo homem. Estão presentes neste tipo de ambiente as seguintes espécies arbóreas: *Tibouchina pulchra* (jacatirão), *Vochysia bifalcata* (guaricica), *Cabralea canjerana* (canjerana), *Platymiscium floribundum* (jacarandá-pitanga), entre outras.

A **Floresta Montana** é uma formação que ocorre na região mais escarpada da Serra do Mar, até uma altitude de 1.200m. A estrutura florestal do dossel é relativamente uniforme de 20m, caracterizada por ecótipos, em geral finos com casca grossa e rugosa, folhas miúdas coriáceas, nesta região os solos são delgados ou litólicos, e as espécies mais comuns são: *Pseudopiptadenia warmingii* (caovi), *Schizolobium parahyba* (guapuruvu), *Ficus sp.*(figueira), *Cedrela fissilis* (cedro), *Copaifera trapezifolia* (pau-óleo), *Roupala sp.* (carvalho), entre outras.

Por sua vez, a **Floresta Alto-Montana**, também denominada de floresta nuvigena ou mata nebulosa, ocorre entre 1.200 e 1.500m de altitude. A formação é arbórea mesofanerofítica, com árvores raquíticas cuja altura vai de 4 a 5m, apresentando dossel com estrato uniforme, troncos e galhos finos, folhas miúdas coriáceas e cascas grossas com fissuras. Solos orgânicos e litólicos húmicos apresentam acumulações turfosas; em função da baixa capacidade de degradação orgânica, a ciclagem de nutrientes é demorada.

Os principais componentes limitantes do crescimento da vegetação são a ação relativamente contínua dos ventos e as baixas temperaturas. As áreas com maior número de vegetação são denominadas áreas de refúgio vegetacional (IPARDES, 1994). As famílias mais comuns de árvores nessa área são: Myrtaceae, Cunionaceae e Winteraceae.

2.4 OCUPAÇÃO DO SOLO DA BACIA DO RIO NHUNDIAQUARA

A transformação da floresta para fins agrícolas ocorre com a colonização espontânea e planificada do uso do solo. Diversos incentivos fiscais, linhas de créditos, facilidades de implantação, exploração de outros recursos como áreas de recreação, aquicultura, entre outros, têm fomentado mudanças no meio ambiente.

Conforme MARCHIORO (1999), a área do município de Morretes é de 66.275,80 (ha), sendo que desse total cerca de 12.252,77 (ha) – 18,50% – corresponderam, em 1996, a área de exploração agrícola. De modo geral, a atividade agrícola ocupa principalmente as margens das sub-bacias hidrográficas nas áreas da planície aluvial.

De acordo com esse autor, de modo geral, no litoral paranaense, dá-se uma ocupação em áreas de baixas e altas pressões agrícolas, com menos de 4,2% da unidade geográfica de estudo (UGE) cultivadas nas de baixa pressão; e mais de 4,2 % nas de alta pressão. No local onde está inserida a bacia do Rio Nhundiaquara, destacam-se três áreas: o baixo Cachoeira e o rio Sagrado com menos de 4,2 % da UGE cultivada e a área do Marumbi sendo esta com mais de 4,2 % da UGE cultivada.

A agricultura, em parte, pode ser caracterizada como uma agricultura familiar, ou seja, a mão de obra utilizada é basicamente familiar. Contudo, as práticas mecanicistas de uma agricultura mais produtiva estão mudando tal característica. Este aspecto se deve à busca econômica de nichos de mercados internacionais cada vez maiores, principalmente pela exportação do gengibre para os Estados Unidos da América e o Japão.

A olericultura, ou seja, os cultivos de alface, feijão, chuchu, pepino, tomate, pimentão e abobrinha são uma das principais atividades agrícolas (*Foto 3*). Isto ocorre, sobretudo, devido a uma produtividade agrícola em torno de 3 a 4 safras anuais. Mas também estão presentes as culturas de banana, arroz de sequeiro, arroz irrigado, milho, maracujá e o gengibre (EMATER, 1995).

FOTO 3 – ASPECTO DE ÁREA AGRICULTÁVEL NA REGIÃO DE
INFLUÊNCIA DA BACIA DO RIO NHUNDIAQUARA



Prática de fruticultura, em primeiro plano e, ao fundo, de olericultura.

Porém, a monocultura do gengibre vem ocupando espaços territoriais cada vez maiores. Nesta cultura específica, devido a condições edafoclimáticas, as chamadas *pragas agrícolas* são um grande problema, o que induz à utilização de insumos industriais.

A SEAB – Dept. de Fiscalização e Comércio de Agrotóxicos apresenta dados para o município de Morretes, de acordo com as seguintes culturas: arroz, com uma área de 90ha e uma produção de 126T; banana, 1093ha e 9290T; cana, 142ha e 5064T; gengibre, 160ha e 3040T; mandioca, área de 210ha e produção de 3150T.

Os principais agrotóxicos utilizados na região são denominados por marcas comerciais: Primestra SC, Lorsban 480 BR, Aliette, Fungiscan, Isatalonil 500 SC, Cefanol, Dithane PM, Manzate 800, Thiobel 500, Folicur 200 CE, Phos-For-US 3-30, Roundup e Gramoxone. As referências quanto a dados quantitativos do uso de agrotóxicos na região são praticamente inexistentes; porém, com o avanço da transformação das técnicas agrícolas, nota-se uma utilização acentuada de insumos industriais na região.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 BIOENSAIOS DE TOXICIDADE AGUDA

Os bioensaios para as microalgas e os microcrustáceos foram realizados no período junho/julho/1999 no Laboratório de Ecotoxicologia Aquática do Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos (Ceppa) – Centro de Estudos do Mar (CEM) da Universidade Federal do Paraná, em Pontal do Paraná – Pontal do Sul.

Para efeitos de normatização são adotadas as seguintes definições, conforme a CETESB (1986b):

- **CE (I) ₅₀:96 h** – concentração efetiva inicial média nominal do agente tóxico, no início do teste, que causa inibição do crescimento de 50 % da biomassa algácea em relação ao controle, em 96 horas de exposição, nas condições do teste batch culture.
- **CE (I) ₅₀: 48 h** – concentração efetiva inicial média, nominal do agente tóxico, no início do teste que causa efeito agudo (imobilidade – perda da capacidade natatória) a 50% dos organismos em 48 horas de exposição, nas condições do teste.
- **Organismo-teste** – organismo cuja alteração no crescimento, sobrevivência, morfologia e/ou fisiologia eventualmente decorrentes de exposição a substância-teste serão testadas em ensaios biológicos e/ou toxicológicos.
- **Substância-teste** - substância testada quanto ao possível efeito em um organismo-teste, podendo tanto ser um produto técnico quanto uma formulação (agrotóxico).
- **Solução-estoque** – qualquer solução de meio ou substância-teste em concentrações superiores àsquelas usadas no teste.
- **Solução-teste** – solução da substância-teste nas concentrações testadas.

3.1.1 Equipamentos e vidrarias

Abaixo estão relacionados os equipamentos necessários para a execução dos bioensaios para as microalgas e os microcrustáceos, cujas marcas foram as disponíveis no laboratório onde os testes foram realizados.

- Autoclave Soc. Fabbe;
- Agitador Magnético d'Tomé;
- Balança Analítica Marte A200;
- Condicionadores de Ar Consul e Springer;
- Capela Estéril de Ultravioleta;
- Destilador de Água Quimis;

- Estufa Fanem 315 SE B;
- Centrífuga Fanem;
- Condutivímetro CD 21;
- Medidor de O₂;
- Incubadora Biológica;
- Impressora HP;
- Microcomputador Pentium 233;
- Microscópio Ótico Laboval 2;
- pHmetro DMPV Digmed;
- Refrigerador General Electric Luxo;
- Termômetros;
- Plataforma de Agitação (Shaker);
- Ultra-Som T145;

Por sua vez, as vidrarias utilizadas foram as seguintes:

- Pipetas Graduadas (1,0 - 2,0 - 5,0 e 10,0 ml);
- Beckers 1000,0 ml;
- Pipetas Volumétricas (1,0 - 5,0 e 10,0 ml);
- Micropipetas de 0,1 ml;
- Erlenmeyers de 250,0 ml;
- Balões volumétricos de 100,0 e 1000,0 ml;
- Câmara de Neubauer.

A manipulação das vidrarias utilizadas no preparo das soluções-estoque, soluções-teste, meios de cultura e manutenção das culturas das microalgas e microcrustáceos seguem as normas descritas em (CETESB, 1986a; BLANKLEY, 1973; HAMILTON, 1973).

3.1.2 Reagentes químicos analíticos

Abaixo estão relacionados os reagentes químicos analíticos necessários para a execução dos bioensaios para as microalgas e os microcrustáceos: .

- Soluções padrões para pH (4,00 e 6,86 D.igimed);
- Soluções padrões do ácido HCl a 1,0 e 0,1 N;
- Soluções padrões da base NaOH a 1,0 e 0,1 N;

- Solução padrão de Condutividade 1.412 uS/cm à 25 °C (D.igimed);
- Dicromato de Potássio (Reagen);
- Indicador buffer tablets MERCK (dureza).

As soluções-estoque para o preparo do meio de cultura de *Concentração Líquida Oligo* – microalgas são as seguintes:

- a) $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (4g para 100ml de água destilada – volume final da solução);
- b) KNO_3 (10g para 100ml de água destilada – volume final da solução);
- c) $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (3g para 100ml de água destilada – volume final da solução);
- d) K_2HPO_4 (4g para 100 ml de água destilada – volume final da solução);
- e) $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ – 0,030mg; $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ – 0,060mg; $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ – 0,060mg; $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ – 0,060mg; $\text{Mn}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ – 0,060mg; $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ – 0,060g; H_3BO_3 - 0,060mg; (para 1000ml de água destilada – volume final da solução);
- f) $\text{C}_6\text{H}_5\text{FeO}_7 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ – 1,625g; $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ – 0,625mg; $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ – 0,625mg; (para 1000ml de água destilada – volume final da solução);
- g) NaHCO_3 – (15g para 1000ml de água destilada – volume final da solução),

Em balão volumétrico de 1000ml, colocar 500ml de água destilada e adicionar as soluções na seguinte ordem: a) 1ml das soluções 1, 2, 3 e 4; 0,5 ml das soluções 5 e 6; 1ml da solução 7. Completar para 1000ml com água destilada e agitar durante 01:00 h para estabilizar a solução.

As soluções-estoque para preparo do meio de cultura **M4** - microcrustáceos são as que seguem:

Meio Básico:

- a) Solução de $\text{Ca Cl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ - 73,52g dissolvidos para 1000ml de água destilada;
- b) Solução de $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ – 123,3g dissolvidos para 1000ml de água destilada;
- c) Solução de KCl – 5,8g dissolvidos para 1000ml de água destilada;
- d) Solução de NaHCO_3 – 64,8g dissolvidos para 1000ml de água destilada.

Solução Catiônica: ($\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ – 7,210g; LiCl – 6,120g; RbCl – 1,420g; $\text{SrCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ – 0,335mg; ZnCl_2 – 0,260mg; $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ – 0,200mg; dissolvidos para 1000ml de água destilada).

Solução Aniônica: (NaNO_3 - 0,548mg; H_3BO_3 – 5,719g; NaBr – 0,032mg; $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ – 0,126mg; KI – 0,065mg; NaSe_2O_3 – 0,438mg; NH_4VO_3 – 0,115mg; dissolvidos para 1000ml de água destilada).

Solução de Silicato de Sódio: (Na_2SiO_3 – 2,147g; dissolvidos em 1000ml de água destilada).

Solução de Fe/EDTA: ($\text{Na}_2\text{EDTA} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ – 0,500mg; $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ – 0,199mg; preparar as soluções separadamente, cada uma parte 500ml de água destilada, após misturar as duas soluções).

Solução de Fosfato: (KH_2PO_4 – 0,286mg; K_2HPO_4 – 0,368mg; preparar para 1000ml de água destilada);

Solução de Vitaminas: (Hidrocloreto de tiamina – 0,750mg; cianocobalamina – 0,010mg e biotina – 0,075mg; completar para 100ml de água destilada, estocar no freezer em porções de 10ml em recipiente fechado).

Para o preparo de 10 litros do Meio M4, recomenda-se utilizar água destilada, conforme a descrição abaixo:

- 40ml da solução básica a);
- 10ml da solução básica b);
- 10ml da solução básica c);
- 10ml da solução básica d);
- 1ml da solução catiônica;
- 5ml da solução aniônica;
- 2ml da solução silicato;
- 50ml da solução Fe/EDTA;
- 5ml da solução fosfato;
- 1ml da solução de vitaminas.

Para as concentrações líquidas do meio Oligo e M4 são utilizadas soluções-estoque preparadas com água destilada e com reagentes de boa qualidade, preferencialmente Merck (NICHOLS, 1973; AFNOR, 1980; CETESB, 1986b; DIN, 1989).

3.2 IDENTIFICAÇÃO DAS SUBSTÂNCIAS-TESTE UTILIZADAS NOS BIOENSAIOS

3.2.1 Substância-teste Roundup

- Número de identificação dos bioensaios: 001/99/D.2/D.5.1.

- Marca comercial do produto: Roundup Solução Aquosa.
- Nome comum do(s) ingrediente(s) ativo(s) (I.A.s): Glifosate, sal de isopropilamina.
- Nome químico do(s) I.A(s): Sal de isopropilamina de N (fosfometil) glicina (IUPAC).
- Classe química: Herbicida sistêmico, de ação total, para aplicação em pós-emergência, derivado da glicina.
- Concentração do(s) I. A(s): 480 g/L.
- Estado físico: Líquido.
- Solubilidade: Solúvel em água.
- Vida Média: Em ecossistemas aquáticos aproximadamente sete semanas.
- Grupo químico: Sal.
- Classificação toxicológica: IV Pouco Tóxico.
- Status para uso no Estado: Liberado.
- Venda aplicada: Não.
- Exemplo de aplicação: Nas culturas de banana a dosagem recomendada é de 3,0 L/Ha com um intervalo de segurança de 30 dias, status da cultura – liberado. Utilizado também em culturas de milho, pastagens, citrus e arroz na região de Morretes.

3.2.2 Substância-teste Gramoxone

- Número de identificação dos bioensaios: 002/99/D.2/D.5.1.
- Marca comercial do produto: Gramoxone.
- Nome comum do(s) ingrediente(s) ativo(s): Paraquat – Dicloreto.
- Nome químico do(s) I.A.(s): 1, 1' - Dimetil – 4, 4' - Bipiridílio Íon, Dicloreto (IUPAC).
- Classe química: Herbicida.
- Concentração do(s) I. A.(s): 200 g/L.
- Estado físico: Líquido.
- Solubilidade: Solúvel em água.
- Vida Média: Longa persistência no ambiente, com deslocamento para regiões vizinhas.
- Grupo químico: Bipiridílios.

- Classificação toxicológica: II – Altamente Tóxico.
- Status para uso no Estado: Liberado.
- Venda aplicada: Sim.
- Exemplo de aplicação: Em culturas de banana a dosagem recomendada é de 1,5 - 3,0 L/Ha com um intervalo de segurança de 01 dias, status da cultura – liberado. Utilizado também em culturas de milho, pastagens, citrus, arroz, feijão, couve e beterraba na região de Morretes.

3.2.3 Substância-teste Cefanol

- Número de identificação dos bioensaios: 003/99/D.2/D.5.1.
- Marca comercial do produto: Cefanol.
- Nome comum do(s) ingrediente(s) ativo(s): Acephate.
- Nome químico do(s) I.A.(s): O, S- dimetil-acetilfosforoamidotioato (IUPAC).
- Classe química: Inseticida acaricida sistêmico.
- Concentração do(s) I. A(s): 750 g/Kg.
- Estado físico: Sólido – pó solúvel.
- Solubilidade: Solúvel em água.
- Vida Média: curta persistência no ambiente, o produto apresenta deslocamento para as regiões vizinhas.
- Grupo químico: Organofosforado.
- Classificação toxicológica: III – Medianamente Tóxico.
- Status para uso no Estado: Liberado.
- Venda aplicada: Não.
- Exemplo de aplicação: Nas culturas de tomates a dosagem recomendada é de 100 g/100 L (400 – 600 L/Ha) de água com um intervalo de segurança de 14 dias, status da cultura – liberado. Utilizado também em culturas de feijão, pimentão, gengibre e plantas ornamentais na região de Morretes.

3.2.4 Substância-teste Isatalonil 500 SC

- Número de identificação dos bioensaios: 004/99/D.2/D.5.1.

- Marca comercial do produto: Isatalonil 500 SC.
- Nome comum do(s) ingrediente(s) ativo(s): Chlorothalonil.
- Nome químico do(s) I.A.(s): Tetracloroisoftalonitrila (1,2,bis-(3-metoxicarbonil-2-tiureido) - benzeno) (IUPAC).
- Classe química: Fungicida do grupo químico das ftalonitrilas.
- Concentração do(s) I. A.(s): 500 g/L.
- Estado físico: Líquido.
- Solubilidade: Solúvel em água.
- Vida Média: Longa persistência no ambiente, o produto apresenta deslocamento para as regiões vizinhas.
- Grupo químico: Tetraclorado.
- Classificação toxicológica: I – Extremamente Tóxico.
- Status para uso no Estado: Liberado.
- Venda aplicada: Não.
- Exemplo de aplicação: Nas culturas de tomates a dosagem recomendada é de 300 mL/100 L de água com um intervalo de segurança de 07 dias, status da cultura – liberado. Utilizado também em culturas de cenoura, gengibre, feijão, pepino e beringela na região de Morretes.

3.2.5 Substância-teste Dithane PM

- Número de identificação dos bioensaios: 005/99/D.2/D.5.1.
- Marca comercial do produto: Dithane PM.
- Nome comum do(s) ingrediente(s) ativo(s): Mancozeb.
- Nome químico do(s) I.A.(s): Coordenação iônica de etilenobisditiocarbamato de manganês e íon zinco.
- Classe química: Fungicida acaricida.
- Concentração do(s) I. A.(s): 840 g/Kg.
- Estado físico: Sólido – pó molhável.
- Solubilidade: Solúvel em água.
- Vida Média: Curta persistência no ambiente, o produto não apresenta deslocamento para as regiões vizinhas.

- Grupo químico: Ditiocarbamato.
- Classificação toxicológica: III – Medianamente Tóxico.
- Status para uso no Estado: Não Liberado.
- Venda aplicada: Não.
- Exemplo de aplicação: Em culturas de tomates a dosagem recomendada é de 540 mL/100 L de água com um intervalo de segurança de 10 dias, status da cultura – não liberado. Utilizado também em culturas de gengibre, feijão e pepino na região de Morretes.

As amostras dos produtos testados foram obtidas no Centro de Pesquisas e Processamento de Alimentos (Ceppa/UFPR). As informações de identificação foram resgatadas do endereço eletrônico da *Extension Toxicology Network* – ExTOxNET (www.extoxnet.com) e na Seab (www.celepar6.pr.gov.br.2080/seab/agr).

3.3 BIOENSAIOS COM MICROALGAS

Realizaram-se cinco bioensaios toxicológicos para Avaliação da Toxicidade Aguda para Microalgas. Os testes foram realizados em duas etapas, uma preliminar para se estabelecer o intervalo de concentrações a ser utilizado no teste definitivo e a etapa definitiva. Foram adotados os métodos descritos pelo CETESB e IBAMA (1986b e 1990ab).

Os métodos utilizados consistem na exposição de uma cultura de microalgas a várias concentrações do agente tóxico, por um período de exposição de 96 horas, por meio das quais é possível determinar a $CE_{50:96h}$ do agente tóxico em teste.

Algas são organismos presentes em ecossistemas aquáticos, onde elas incorporam energia solar em biomassa (fotossíntese), produzem oxigênio, apresentam importante papel na ciclagem de nutrientes e ainda servem para inúmeras funções. Devido a sua importância trófica (ecológica) e sua sensibilidade a substâncias estressoras (poluição), as algas são usualmente utilizadas em bioensaios toxicológicos. A espécie utilizada nos testes foi a microalga *Selenastrum capricornutum* Printz, que é uma microalga unicelular, de água doce, sem

capacidade de locomoção. Esta espécie é recomendada internacionalmente para estudos de avaliação da ecotoxicidade de agentes químicos (MILLER *et al.* 1978).

Este organismo-teste é procedente de cepa reisolada no Laboratório de Ecotoxicologia Aquática do Ceppa/CEM/UFPR, a partir de matriz originária da Cetesb. A manutenção é realizada em meio sólido e mantido a uma temperatura de 4.°C (CETESB, 1986b).

Para o preparo do inóculo retirou-se o organismo-teste do estoque em ágar 5 dias antes dos experimentos e colocou-se para crescer em Erlenmeyer contendo 50,0ml do Meio L. C. Oligo nas condições de luz, temperatura e agitação observadas nos testes (AFNOR, 1980; CETESB, *op.cit.*).

No dia inicial aos testes o inóculo foi centrifugado a 1.500rpm durante 10 minutos e ressuspenso em 10ml de solução estéril de NaHCO₃ (15mg/L) por mais duas vezes nas condições adequadas de assepsia (BLANKLEY, 1973; HAMILTON, 1973; CETESB, *op.cit.*).

A suspensão resultante foi avaliada quanto a densidade celular através de contagem em câmara de Neubauer (NICHOLS, 1973). O resultado da densidade celular foi utilizado como referência para o inóculo entre 0,1 e 1ml e concentração de aproximadamente 60.000 células/ml.

3.3.1 Preparo das soluções-estoque (concentrações de 10.000 – 1.000 – 100 e 10mg do ingrediente ativo/L) das substâncias-teste para os bioensaios com microalgas

Para os produtos de marca comercial Roundup e Isatalonil 500 SC, foram pipetados 0,2ml dos produtos e transferidos distintamente para balões volumétricos de 100ml, com aproximadamente 50ml de água destilada em cada um. A água destilada foi acrescentada aos poucos, enquanto os balões eram agitados em movimento circular, até completar o volume de 100ml.

Para o Gramoxone, foram pipetados 0,5ml do produto, seguindo então os mesmos procedimentos adotados para os produtos Roundup e Isatalonil 500 SC.

Para os produtos Cefanol e Dithane PM, utilizando uma balança analítica, foram pesados respectivamente 113 e 119mg dos produtos, as substâncias-teste

foram então transferidas distintamente para balões volumétricos de 100ml, com aproximadamente 50ml de água destilada em cada um (*Foto 4*).

FOTO 4 - PREPARO DE SOLUÇÕES-ESTOQUE



Laboratório de Avaliação da Toxicidade para Organismos Aquáticos (Ceppa – Centro de Estudos do Mar/UFPR), Pontal do Paraná-PR

Posteriormente, seguiu-se a mesma condição de preparo citada acima. Os resultados dos preparos foram soluções-estoque de 1000mg ingrediente ativo /L.

A partir das soluções-estoque obtidas na primeira etapa, foram então pipetados 1ml de cada soluções-estoque de 1000mg/L, obtendo-se por diluição soluções-estoque de 10mg do i.a./L. De posse destas duas soluções-estoque (1000 e 10mg/L) para cada produto, foram feitas diluições diretamente em Erlenmeyers de 250ml contendo meio, previamente autoclavados, num volume total de 50ml.

Para o produto Roundup, foi necessário preparar uma solução-estoque de 100mg do i.a./L para ser utilizada no teste definitivo. Ela foi obtida pipetando-se 10ml da solução-estoque de 1000mg do i.a./L, que foram transferidos para um balão

volumétrico de 100ml e completado com água destilada, obtendo-se por diluição a solução-estoque de 100mg do i.a./L.

Ainda, para o produto Cefanol, foi também necessário o preparo de uma solução-estoque de concentração de 10000mg do i.a./L, utilizada para o teste definitivo. Foi obtida pesando-se 1,33g do produto, transferido para um balão volumétrico de 100ml e completado com água destilada. Desta forma, foi obtida a solução-estoque de 10000mg do i.a./L.

Em todos os preparos observou-se total solubilização dos produtos.

A obtenção das soluções preparadas segue a seguinte fórmula:

Soluções-estoque

$$C_1 \cdot V_1 = C_2 \cdot V_2$$

Onde: C_1 – concentração inicial

V_1 – volume inicial

C_2 – concentração final

V_2 – volume final

Conforme os métodos utilizados, recomenda-se adotar intervalos logarítmicos na escolha das concentrações a serem utilizadas no teste. Cada intervalo de concentração pode ser adaptado de maneira a se obter a faixa de concentrações-teste requerida, por intermédio da mudança da vírgula decimal.

O Quadro 1 mostra as diferentes concentrações nominais das soluções-teste dos cinco bioensaios preliminares. Como procedimento padrão para esta etapa, o intervalo de concentração das soluções-teste varia entre 0,1 e 100mg do i.a./L. Este intervalo, abrange as concentrações que obrigatoriamente devem ser testadas segundo a classificação toxicológica da Portaria 84/96 do IBAMA.

QUADRO 1 - PREPARO DE SOLUÇÕES-TESTE DOS CINCO
BIOENSAIOS PRELIMINARES – ROUNDUP – GRAMOXONE
– CEFANOL – ISATALONIL 500SC – DITHANE PM

Amostra	[] em mg do i.a./L	Vol. (ml) do Meio	Vol. (ml) adicionado	Sol.- estoque mg do i.a./L
A	Controle	50,0	_____	_____
B	0,1	50,0	0,5	10,0
C	1,0	45,0	5,0	10,0
D	10,0	50,0	0,5	1000,0
E	100,0	45,0	5,0	1000,0

Os Quadros 2, 3, 4, 5 e 6 mostram as diferentes concentrações nominais das soluções-teste dos bioensaios definitivos.

QUADRO 2 - PREPARO DE SOLUÇÕES-TESTE DO BIOENSAIO
DEFINITIVO DO PRODUTO ROUNDUP

Amostra	[] em mg do i.a./L	Vol. (ml) do Meio	Vol. (ml) adicionado	Sol estoque mg do i.a./L
A	Controle	50,0	_____	_____
B	1,0	50,0	0,5	100,0
C	2,0	50,0	1,0	100,0
D	3,0	50,0	1,5	100,0
E	6,0	47,0	3,0	100,0
F	10,0	45,0	5,0	100,0

**QUADRO 3 - PREPARO DE SOLUÇÕES-TESTE DO BIOENSAIO
DEFINITIVO DO PRODUTO GRAMOXONE**

Amostra	[] em mg do i.a./L	Vol. (ml) do Meio	Vol. (ml) adicionado	Sol estoque mg do i.a./L
A	Controle	50,0	_____	_____
B	0,1	50,0	0,5	10,0
C	0,2	50,0	1,0	10,0
D	0,3	50,0	1,5	10,0
E	0,6	47,0	3,0	10,0
F	1,0	45,0	5,0	10,0

**QUADRO 4 - PREPARO DE SOLUÇÕES-TESTE DO BIOENSAIO
DEFINITIVO DO PRODUTO CEFANOL**

Amostra	[] em mg do i.a./L	Vol. (ml) do Meio	Vol. (ml) adicionado	Sol. estoque mg do i.a./L
A	Controle	50,0	_____	_____
B	100,0	50,0	0,5	10000,0
C	200,0	50,0	1,0	10000,0
D	300,0	50,0	1,5	10000,0
E	600,0	47,0	3,0	10000,0
F	1000,0	45,0	5,0	10000,0

**QUADRO 5 - PREPARO DE SOLUÇÕES-TESTE DO BIOENSAIO
DEFINITIVO DO PRODUTO ISATALONIL 500 SC**

Amostra	[] em mg do i.a./L	Vol. (ml) do Meio	Vol. (ml) adicionado	Sol estoque mg do i.a./L
A	Controle	50,0	_____	_____
B	0,1	50,0	0,5	10,0
C	0,2	50,0	1,0	10,0
D	0,3	50,0	1,5	10,0
E	0,6	47,0	3,0	10,0
F	1,0	45,0	5,0	10,0

**QUADRO 6 - PREPARO DE SOLUÇÕES-TESTE DO BIOENSAIO
DEFINITIVO DO PRODUTO DITHANE PM**

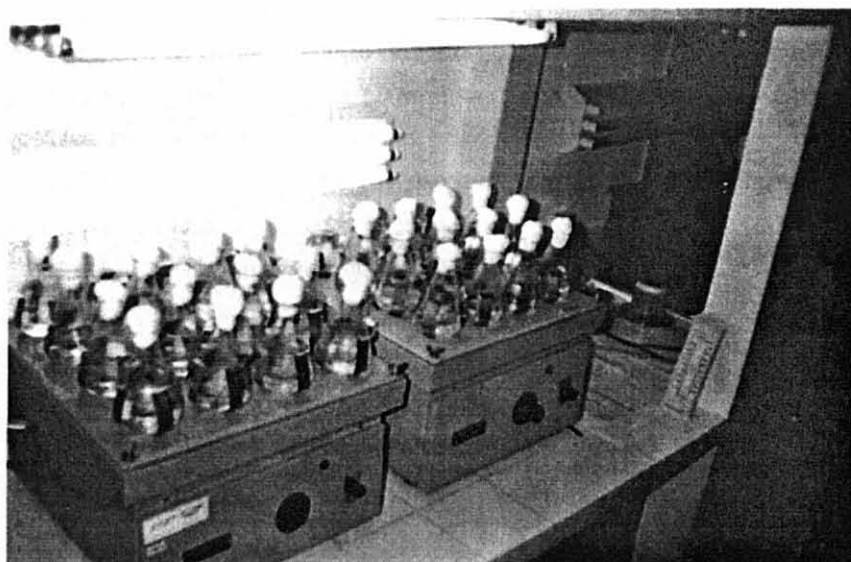
Amostra	[] em mg do i.a./L	Vol. (ml) do Meio	Vol. (ml) adicionado	Sol estoque mg do i.a./L
A	Controle	50,0	_____	_____
B	0,06	50,0	0,3	10,0
C	0,1	50,0	0,5	10,0
D	0,3	50,0	1,5	10,0
E	0,6	47,0	3,0	10,0
F	1,0	45,0	5,0	10,0

3.3.2 Condições dos testes

Os frascos-teste (Erlenmeyers) foram postos em plataformas de agitação (*Shakers*), no interior de uma sala mantida a 24 +/- 1°C, com iluminação contínua fluorescente (tipo luz do dia) fornecendo cerca de 5000,0 lux e a uma velocidade de agitação em torno de 120,0 rpm (*Foto 5*). Os testes decorreram pelo período de 96 horas, sendo que diariamente os frascos sofreram rodízio aleatório nas plataformas

de agitação. Nos testes preliminares, foram utilizadas 2 réplicas e nos definitivos 3 réplicas por concentração testada.

FOTO 5 – BIOENSAIOS COM ALGAS



Plataformas de agitação com o registro das condições do bioensaio com algas.

O pH foi ajustado para $7,0 \pm 0,2$ nos frascos-teste com medidor de pH modelo DMPV Digimed e avaliado ao final dos experimentos com papel indicador de pH Merck.

3.3.3 Biomassa algácea

Para avaliar o crescimento algal, foram realizadas contagens de organismos ao microscópio, utilizando câmara de *Neubauer*. Para a contagem, amostras de 2,0 a 3,0 ml foram coletadas das soluções-teste e fixadas com lugol acético. Dos valores de crescimento, obtidos após 96 horas, foram subtraídos os valores de inóculo e os resultados expressos em porcentagem de efeito do crescimento em relação ao controle.

3.4 BIOENSAIOS COM MICROCRUSTÁCEOS

Realizaram-se cinco bioensaios toxicológicos para Avaliação da Toxicidade Aguda para Microcrustáceos. Foram utilizados para este propósito os métodos descritos pelo IBAMA e DIN (1990b e 1989).

Estes métodos consistem na exposição de indivíduos neonatos de *Daphnia magna* a várias diluições das soluções-teste por um período de 48 horas, quando é observada a letalidade, ou seja, o efeito agudo. Os bioensaios foram realizados em duas etapas, uma preliminar e uma definitiva.

Como organismo-teste, foi utilizada a espécie do microcrustáceo *Daphnia magna* (Straus, 1820); *Daphnia magna* pertence a classe dos Crustáceos – Cladocera - Phyllopoda. Estes microcrustáceos fazem parte do zooplâncton de água doce. Alimentam-se por processos de filtração de substâncias orgânicas sob forma de partículas.

Em sua função ecológica, atua como consumidor de mais baixa ordem, entre os detritívoros (bactérias) e produtores primários as (algas).

De acordo com a USEPA (1991b), são relacionados alguns fatores para a escolha deste organismo-teste:

- a) dentre os Daphnideos é um dos organismos de mais fácil manuseio laboratorial;
- b) reproduzir-se partenogeneticamente, assegurando dessa forma uma uniformidade de resposta de sensibilidade genotípica nas avaliações ecotoxicológicas;
- c) possuir um ciclo de vida relativamente curto. Estes aspectos conferem a *Daphnia magna*, a utilização mundial deste organismo em bioensaios ecotoxicológicos.

3.4.1 Dados biológicos do cultivo para *Daphnia magna*

Utilizou-se água destilada, oriunda de poço semi-artesiano para preparar a água de diluição, apresentando as seguintes características:

- Condutividade: 005 uS/cm;

- Dureza: 2,64 mg/L em CaCO₃;
- pH: 5,60.

Enriqueceu-se 100 litros de água destilada com soluções do Meio M4 e deixou-se sob aeração DIN (1989). Um lote de 20 litros do meio foi filtrado através de filtro de papel, para a manutenção das fêmeas e diluição das soluções-teste, apresentando as seguintes características:

- Condutividade: 285 uS/cm;
- Dureza: 118,28 mg/L em CaCO₃;
- pH (ajustado): 8,0.

3.4.2 Condições de cultivo dos organismos-teste

Os organismos utilizados nos testes de toxicidade aguda foram obtidos de culturas laboratoriais mantidas no Laboratório de Ecotoxicologia Aquática do (Ceppa/CEM/UFPR). Beckers, com capacidade para 1000ml, com 800ml de meio de cultura M4 utilizados para acondicionar 15 fêmeas com idade entre 10-18 dias.

A cultura é mantida em câmara fechada, com fotoperíodo de 14 horas de luz e 10 horas de escuro. Diariamente, as culturas são limpas e alimentadas com microalgas *Chlorella sp.* e *Scenedesmus subspicatus* e uma mistura de ração para peixes e fermento biológico.

Os organismos-teste (entre 6 e 24 horas de idade - neonatos) foram separados dos adultos, para serem utilizados nos bioensaios. (OECD, 1983; DIN, 1989; IBAMA, 1990a; USEPA, 1991b; CETESB, 1991; ABNT, 1993).

3.4.3 Preparo das soluções-estoque dos cinco bioensaios

Para os produtos Roundup e Isatalonil 500 SC: 0,2ml dos produtos foram colocados distintamente em balões volumétricos de 1000ml contendo em torno de 700ml de água destilada. As soluções foram homogeneizadas e o volume progressivamente completado para 1000ml de água destilada em cada balão. A partir destas soluções-estoque de 100mg do i.a./L, foram obtidas as soluções-

estoque de 10mg do i.a./L, para tanto pipetou-se 10ml das soluções-estoque de 100mg do i.a./L que foram transferidos para balões volumétricos de 100ml.

Para o produto Gramoxone: 0,5ml do produto foi colocado num balão volumétrico de 1000ml contendo aproximadamente 700ml de água destilada. A solução foi homogeneizada e o volume progressivamente completado para 1000ml com água destilada.

A partir desta solução-estoque de 100mg do i.a./L, foi obtida a solução-estoque de 10mg do i.a./L, para tanto pipetou-se 10ml da solução-estoque de 100mg do i.a./L que foi transferido para um balão volumétrico de 100ml.

Para os produtos Cefanol e Dithane PM: utilizando uma balança analítica foram pesados respectivamente 113 e 119mg dos produtos, as substâncias-teste foram então transferidas distintamente para balões volumétricos de 1000ml, com aproximadamente 700ml de água destilada em cada um. As soluções foram homogeneizadas e o volume completado para 1000ml de água destilada em cada balão, assim obteve-se as soluções-estoque de 100mg do i.a./L.

A partir destas soluções-estoque de 100mg do i.a./L, foram obtidas as soluções-estoque de 10mg do i.a./L, nos mesmos procedimentos citados acima. Os resultados dos preparos dos cinco bioensaios foram soluções-estoque de 100 e 10mg dos ingredientes ativos/L.

A partir das soluções-estoques, as diluições foram feitas diretamente nos frascos-teste (beckers de 25ml) num volume dos testes de 20ml.

Os Quadros 7, 8, 9, 10 e 11 mostram as diferentes concentrações das soluções-teste dos bioensaios preliminares e definitivos.

**QUADRO 7 - PREPARO DE SOLUÇÕES-TESTE DO BIOENSAIO
PRELIMINAR E DEFINITIVO DO PRODUTO ROUNDUP**

Amostras de testes preliminar e definitivo	Solução-teste em i.a. (mg/L)	Solução-estoque do produto (ml/L)	Volume da solução estoque (mL)	Volume da água do cultivo (mL)	Volume total do frasco (mL)
A	C O N T R O L E				20,0
Pre. B	0,1	0,02	0,2	19,8	20,0
C	0,2	0,2	0,1	19,9	20,0
D	1,0	0,2	0,2	19,8	20,0
E	5,0	0,2	1,0	19,0	20,0
F	10,0	0,2	2,0	18,0	20,0
G	50,0	0,2	10,0	10,0	20,0
H	100,0	0,2	20,0	—	20,0
Def. I	1,0	0,2	0,2	19,8	20,0
J	2,0	0,2	0,4	19,6	20,0
K	3,0	0,2	0,6	19,4	20,0
L	6,0	0,2	1,2	18,8	20,0
M	10,0	0,2	2,0	18,0	20,0

**QUADRO 8 - PREPARO DE SOLUÇÕES-TESTE DO BIOENSAIO
PRELIMINAR E DEFINITIVO DO PRODUTO GRAMOXONE**

Amostras de testes preliminar e definitivo	Solução-teste em i.a. (mg/L)	Solução-estoque do produto (ml/L)	Volume da solução-estoque (mL)	Volume da água do cultivo (mL)	Volume total do frasco(mL)
A	C O N T R O L E				20,0
Pré. B	0,1	0,05	0,2	19,8	20,0
C	0,2	0,5	0,1	19,9	20,0
D	1,0	0,5	0,2	19,8	20,0
E	5,0	0,5	1,0	19,0	20,0
F	10,0	0,5	2,0	18,0	20,0
G	50,0	0,5	10,0	10,0	20,0
H	100,0	0,5	20,0	—	20,0
Def. I	1,0	0,5	0,2	19,8	20,0
J	2,0	0,5	0,4	19,6	20,0
K	3,0	0,5	0,6	19,4	20,0
L	6,0	0,5	1,2	18,8	20,0
M	10,0	0,5	2,0	18,0	20,0

**QUADRO 9 - PREPARO DE SOLUÇÕES-TESTE DO BIOENSAIO
PRELIMINAR E DEFINITIVO DO PRODUTO ISATALONIL
500 SC**

Amostras de testes preliminar e definitivo	Solução-teste em i.a. (mg/L)	Solução-estoque do produto (mg/L)	Volume da solução estoque (mL)	Volume da água do cultivo (mL)	Volume total do frasco(mL)
A	C O N T R O L E				20,0
Pre. B	0,1	0,02	0,2	19,8	20,0
C	0,2	0,2	0,1	19,9	20,0
D	1,0	0,2	0,2	19,8	20,0
E	5,0	0,2	1,0	19,0	20,0
F	10,0	0,2	2,0	18,0	20,0
G	50,0	0,2	10,0	10,0	20,0
H	100,0	0,2	20,0	—	20,0
Def. I	0,1	0,02	0,2	19,8	20,0
J	0,2	0,02	0,4	19,6	20,0
K	0,3	0,02	0,6	19,4	20,0
L	0,6	0,02	1,2	18,8	20,0
M	1,0	0,2	0,2	19,8	20,0

**QUADRO 10 - PREPARO DE SOLUÇÕES-TESTE DO BIOENSAIO
PRELIMINAR E DEFINITIVO DO PRODUTO CEFANOL**

Amostras de testes preliminar e definitivo	Solução-teste em i.a. (mg/L)	Solução-estoque do produto(mg/L)	Volume da solução estoque (mL)	Volume da água do cultivo (mL)	Volume total do frasco (mL)
A	C O N T R O L E				20,0
Pre. B	0,1	13,3,0	0,2	19,8	20,0
C	0,2	133,0	0,1	19,9	20,0
D	1,0	133,0	0,2	19,8	20,0
E	5,0	133,0	1,0	19,0	20,0
F	10,0	133,0	2,0	18,0	20,0
G	50,0	133,0	10,0	10,0	20,0
H	100,0	133,0	20,0	—	20,0
Def. I	0,6	13,3	1,2	18,8	20,0
J	1,0	133,0	0,2	19,8	20,0
K	2,0	133,0	0,4	19,6	20,0
L	3,0	133,0	0,6	19,4	20,0
M	6,0	133,0	1,2	18,8	20,0

**QUADRO 11 - PREPARO DE SOLUÇÕES-TESTE DO BIOENSAIO
PRELIMINAR E DEFINITIVO DO PRODUTO DITHANE PM**

Amostras de testes preliminar e definitivo	Solução-teste em i.a. (mg/L)	Solução-estoque do produto (mg/L)	Volume da solução-estoque (mL)	Volume da água do cultivo (mL)	Volume total do frasco(mL)
A	C O N T R O L E				20,0
Pre. B	0,1	11,9	0,2	19,8	20,0
C	0,2	119,0	0,1	19,9	20,0
D	1,0	119,0	0,2	19,8	20,0
E	5,0	119,0	1,0	19,0	20,0
F	10,0	119,0	2,0	18,0	20,0
G	50,0	119,0	10,0	10,0	20,0
H	100,0	119,0	20,0	—	20,0
Def. I	0,1	11,9	0,2	19,8	20,0
J	0,2	11,9	0,4	19,6	20,0
K	0,3	11,9	0,6	19,4	20,0
L	0,6	11,9	1,2	18,8	20,0
M	1,0	119,0	0,2	18,8	20,0

3.4.4 Condições dos testes

Os organismos e as soluções foram aclimatados ao ambiente de teste por cerca de uma hora. Os testes foram realizados no interior de uma incubadora biológica com temperatura controlada ($21 \pm 1.0^{\circ}\text{C}$), no escuro e sem suprimento de alimentação (*Foto 6*).

FOTO 6 – INCUBADORA BIOLÓGICA – BIOENSAIOS COM
MICROCRUSTÁCEOS



Incubadora biológica
Nas bandejas, o bioensaio com microcrustáceos

Obteve-se resultados em 24 e 48 horas de bioensaio. Os resultados de pH foram registrados no início e ao final de cada experimento através de papel indicador de pH Merck. Nos testes preliminares, utilizou-se duas réplicas e nos definitivos quatro réplicas, para cada concentração testada.

Para a validação dos resultados, foram realizados, preliminarmente, os testes de viabilidade do meio M4, que no caso foi de 0% de imobilidade em 48 horas, utilizando cinco réplicas.

Ainda, foram realizados quatro testes de sensibilidade com a substância de referência padrão, o dicromato de potássio, este com três réplicas, em que a faixa mínima aceitável de resposta toxicológica situa-se no intervalo de concentrações de 0,04 a 0,17 mg/L (IBAMA, 1990a).

Testes de sensibilidade com dicromato de potássio:

Teste 1- $CE(I)_{50:24h} = 0,21 \text{ mg/L}$

Teste 2- $CE(I)_{50:24h} = 0,20 \text{ mg/L}$

Teste 3- $CE(I)_{50:24h} = 0,18 \text{ mg/L}$

Teste 4- $CE(I)_{50:24h} = 0,18 \text{ mg/L}$

3.4.5 Avaliação da imobilidade

O comportamento de natação dos organismos-teste foi observado com o auxílio de uma placa com luz fria. Animais flutuando ou lentos (com padrão de natação diferente do controle) foram considerados imóveis. A imobilidade de *Daphnia magna* foi considerada sinônimo de mortalidade.

3.5 CÁLCULOS ESTATÍSTICOS DOS RESULTADOS OBTIDOS DOS BIOENSAIOS PARA MICROALGAS E MICROCRUSTÁCEOS

Calculou-se o parâmetro $CE(I)_{50}$: 48/96 horas e intervalos de confiança pelo método da regressão linear, sendo utilizado para este propósito o programa estatístico Spearman-Kärber (HAMILTON *et al.* 1978; CETESB, 1987).

O método consiste no cálculo ou representação gráfica dos dados obtidos nos testes de toxicidade aguda para determinar a EC_{50} de um agente tóxico. Utiliza-se uma modificação da equação da reta (anamorfose) e o método dos mínimos quadrados, para obter as estimativas dos parâmetros A e B da equação abaixo:

$$Y = A + B \log_{10}(x),$$

Onde: A= coeficiente linear

B= coeficiente angular

Y= variável dependente

x= variável independente

Nesta análise, Y representa a porcentagem de organismos afetados nos testes de toxicidade e x (transformado em logaritmo) indica a concentração do agente tóxico estudado.

O cálculo então é efetuado por meio da equação da reta - $Y = A + B \cdot \log x$

Onde: $A = \frac{\sum Y}{n} - B \cdot \frac{\sum x}{n}$

$$B = \frac{n \sum xy - (\sum x)(\sum y)}{n \sum x^2 - (\sum x)^2}$$

n = número de concentrações utilizadas nos cálculos

Transformando a equação da reta $Y = A + B \cdot \log x$, temos: $CE_{50} = \frac{10(50 - A)}{B}$

A representação gráfica da relação concentração/resposta pode ser demonstrada da seguinte forma:

- utilizando um papel mono-log coloca-se as concentrações do agente tóxico (na escala logarítmica) em função da porcentagem de efeito observado (escala aritmética). Os pontos demarcados são as representações dos valores obtidos;
- utilizando a equação $y = A + Bx$, substitui-se as concentrações do agente tóxico transformados em logaritmo (x), desse modo obtém-se os valores corrigidos de efeito observado;
- coloca-se no gráfico os valores corrigidos e traça-se uma reta;
- a partir da reta traçada, obter, no eixo dos x, a concentração correspondente a 50 % de efeito observado. Esse valor corresponderá então a CE_{50} ou CL_{50} do agente tóxico testado.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 RESULTADOS DOS BIOENSAIOS PARA MICROALGAS

As concentrações das substâncias-teste, os valores de pH iniciais e finais, os crescimentos obtidos, bem como seus valores de percentagem de efeitos em relação aos tratamentos controles estão relacionados na sequência abaixo.

4.1.1 Produto Roundup

Os resultados do teste preliminar e definitivo estão nos *Quadros 12 e 13*.

QUADRO 12 - TESTE PRELIMINAR / ROUNDUP

Concentração em (mg do i.a./L) solução-teste	pH inicial	pH final	Crescimento (média de 2 réplicas)	% Efeito
A- Controle	7.1	8.0	7129350	—
B- 0,1	7.1	8.0	7041114	1
C- 1,0	7.1	8.0	4321966	40
D- 10,0	7.1	7.0	1587252	78
E- 100,0	7.1	7.0	0	100

Os resultados obtidos indicaram que a CE (I)₅₀: 96 horas deve estar situada entre as concentrações C e D. O teste definitivo foi então conduzido com concentrações intermediárias a elas.

QUADRO 13 - TESTE DEFINITIVO / ROUNDUP

Concentração (mg do i.a./L) solução-teste	pH inicial	pH final	Crescimento (média de 3 réplicas)	% Efeito
A – Controle	7.1	8.0	7244178	—
B - 1,0	7.1	8.0	4463874	38
C - 2,0	7.1	8.0	3019056	58
D - 3,0	7.1	8.0	2851963	61
E - 6,0	7.1	8.0	2510354	65
F - 10,0	7.1	7.0	1720399	76

Os resultados demonstraram que a CE (I)₅₀: 96 horas deve estar situada entre as concentrações B e C. Os resultados foram então submetidos à análise estatística (*Anexo 1*).

Cálculo estatístico:

A CE (I)₅₀: 96 horas = 1,57mg do i.a./L

O Intervalo de confiança (95 %) - Inferior: 1,16

- Superior: 2,12

Concentração mínima que provoca inibição total do crescimento: 100mg do i.a./L

Concentração máxima que não inibe o crescimento: inferior a 0,1 mg do i.a./L

4.1.2 Produto Gramoxone

Os resultados do teste preliminar e definitivo estão nos *Quadros 14 e 15*.

QUADRO 14 - TESTE PRELIMINAR / GRAMOXONE

Concentração em (mg do i.a./L) solução-teste	pH inicial	pH final	Crescimento (média de 2 réplicas)	% Efeito
A – Controle	7.1	8.0	6947346	—
B- 0,1	7.1	8.0	4037102	42
C- 1,0	7.1	7.0	250366	96
D- 10,0	7.1	7.0	0	100
E- 100,0	7.1	7.0	0	100

Os resultados obtidos indicaram que a CE (I)₅₀: 96 horas deve estar situada entre as concentrações B e C. O teste definitivo foi então conduzido com concentrações intermediárias.

QUADRO 15 - TESTE DEFINITIVO / GRAMOXONE

Concentração (mg do i.a./L) solução-teste	pH inicial	pH final	Crescimento (média de 3 réplicas)	% Efeito
A – Controle	7.1	8.0	7111264	—
B - 0,1	7.1	8.0	4208026	41
C - 0,2	7.1	8.0	2541784	64
D - 0,3	7.1	7.0	1075325	85
E - 0,6	7.1	7.0	473960	93
F - 1,0	7.1	7.0	199631	97

Os resultados demonstraram que a CE (I)₅₀: 96 horas deve estar situada entre as concentrações B e C. Os resultados foram então submetidos à análise estatística (*Anexo 2*).

Cálculo estatístico:

A CE (I)₅₀: 96 horas = 0,13mg do i.a./L

O Intervalo de confiança (95%) - Inferior: 0,10mg do i.a./L

- Superior: 0,18mg do i.a./L

Concentração mínima que provoca inibição total do crescimento: 10mg do i.a./L

Concentração máxima que não inibe o crescimento: inferior a 0,1mg do i.a./L

4.1.3 Produto Cefanol

Os resultados do teste preliminar e definitivo estão nos *Quadros 16 e 17*.

QUADRO 16 - TESTE PRELIMINAR / CEFANOL

Concentração em (mg do i.a./L) solução-teste	pH inicial	pH final	Crescimento (média de 2 réplicas)	% Efeito
A - Controle	7.1	8.0	7138343	—
B- 0,1	7.1	8.0	7204167	0
C- 1,0	7.1	8.0	7089555	1
D- 10,0	7.1	8.0	6077461	15
E- 100,0	7.1	8.0	5862031	18

Os resultados obtidos indicaram que a CE (I)₅₀: 96 horas deve estar situada acima da maior concentração da solução-teste. O teste definitivo foi então conduzido com concentrações acima desta concentração.

QUADRO 17 - TESTE DEFINITIVO / CEFANOL

Concentração (mg do i.a./L) solução-teste	pH inicial	pH final	Crescimento (média de 3 réplicas)	% Efeito
A - Controle	7.1	8.0	7099412	—
B - 100,0	7.1	8.0	5766340	19
C - 200,0	7.1	8.0	3092174	56
D - 300,0	7.1	8.0	2537005	64
E - 600,0	7.1	7.0	904703	87
F - 1000,0	7.1	7.0	379651	95

Os resultados demonstraram que a CE (I)₅₀: 96 horas deve estar situada entre as concentrações B e C. Os resultados foram então submetidos à análise estatística (Anexo 3).

Cálculo estatístico:

A CE (I)₅₀: 96 horas = 200,15 mg do i.a./L

O Intervalo de confiança (95 %) - Inferior: 175,88 mg do i.a./L

- Superior: 227,77 mg do i.a./L

Concentração mínima que provoca inibição total do crescimento: acima de 1000mg do i.a./L

Concentração máxima que não inibe o crescimento: **0,1 mg do i.a./L**

4.1.4 Produto Isatalonil 500 SC

Os resultados do teste preliminar e definitivo estão nos *Quadros 18 e 19*.

QUADRO 18 - TESTE PRELIMINAR / ISATALONIL 500 SC

Concentração em (mg do i.a./L) solução-teste	pH inicial	pH final	Crescimento (média de 2 réplicas)	% Efeito
A – Controle	7.1	8.0	7231512	—
B- 0,1	7.1	8.0	4650067	36
C- 1,0	7.1	7.0	30761	100
D- 10,0	7.1	7.0	0	100
E- 100,0	7.1	7.0	0	100

Os resultados obtidos indicaram que a CE (I)₅₀: 96 horas deve estar situada entre as concentrações B e C. O teste definitivo foi então conduzido com concentrações intermediárias a elas.

QUADRO 19 - TESTE DEFINITIVO / ISATALONIL 500 SC

Concentração (mg do i.a./L) solução-teste	pH inicial	pH final	Crescimento (média de 3 réplicas)	% Efeito
A – Controle	7.1	8.0	7084306	—
B - 0,1	7.1	8.0	4808026	32
C - 0,2	7.1	8.0	2173002	69
D - 0,3	7.1	7.0	1370609	81
E - 0,6	7.1	7.0	534092	92
F - 1,0	7.1	7.0	0	100

Os resultados demonstraram que a CE (I)₅₀: 96 horas deve estar situada entre as concentrações B e C. Os resultados foram então submetidos à análise estatística (*Anexo 4*).

Cálculo estatístico:

A CE (I)₅₀: 96 horas = 0,14 mg do i.a./L

O Intervalo de confiança (95 %) - Inferior: 0,12mg do i.a./L

- Superior: 0,17mg do i.a./L

Concentração mínima que provoca inibição total do crescimento: 1mg do i.a./L

Concentração máxima que não inibe o crescimento: inferior a 0,1 mg do i.a./L

4.1.5 Produto Dithane PM

Os resultados do teste preliminar e definitivo estão respectivamente nos Quadros 20 e 21.

QUADRO 20 - TESTE PRELIMINAR / DITHANE PM

Concentração em (mg do i.a./L) solução-teste	pH inicial	pH final	Crescimento (média de 2 réplicas)	% Efeito
A – Controle	7.1	8.0	7170021	—
B - 0,1	7.1	8.0	3902857	46
C - 1,0	7.1	7.0	1066024	85
D - 10,0	7.1	7.0	0	100
E - 100,0	7.1	7.0	0	100

Os resultados obtidos indicaram que a CE (I)₅₀: 96 horas deve estar situada entre as concentrações B e C. O teste definitivo foi então conduzido com uma concentração inferior a 0,1 mg do i.a./L e concentrações intermediárias entre B e C.

QUADRO 21 - TESTE DEFINITIVO / DITHANE PM

Concentração (mg do i.a./L) solução-teste	pH inicial	pH final	Crescimento (média de 3 réplicas)	% Efeito
A - Controle	7.1	8.0	7206499	—
B - 0,06	7.1	8.0	4988015	31
C - 0,1	7.1	8.0	4001562	44
D - 0,3	7.1	8.0	3752190	48
E - 0,6	7.1	8.0	1544207	79
F - 1,0	7.1	7.0	701632	90

Os resultados demonstraram que a CE (I)₅₀: 96 horas deve estar situada entre as concentrações D e E. Os resultados foram então submetidos à análise estatística (Anexo 5).

Cálculo estatístico:

A CE (I)₅₀: 96 horas = 0,20 mg do i.a./L

O Intervalo de confiança (95 %) - Inferior: 0,15 mg do i.a./L

- Superior: 0,28 mg do i.a./L

Concentração mínima que provoca inibição total do crescimento: 10mg do i.a./L

Concentração máxima que não inibe o crescimento: inferior a 0,06 mg do i.a./L

O aumento de pH observado nos testes deve-se ao aumento de atividade biológica nos frascos-teste, devido ao crescimento das algas.

4.2 RESULTADOS DOS BIOENSAIOS PARA MICROCRUSTÁCEOS

As concentrações das substâncias-teste, os valores de pH iniciais e finais, número de organismos imóveis por réplica, bem como seus valores de percentagem de indivíduos imóveis em relação aos tratamentos controles estão relacionados na seqüência abaixo.

4.2.1 Produto Roundup

Os resultados do teste preliminar e definitivo estão respectivamente nos Quadros 22 e 23.

QUADRO 22 – TESTE PRELIMINAR / ROUNDUP

Concentração do i.a. em mg/L	Amostra	N.ºOrganismos imóveis por réplica		N.ºOrganismos por concentração		% Imóveis	pH Final
		1	2	Imóveis	Total		
Controle	A	0	0	0	10	0	8
0,1	B	0	0	0	10	0	8
0,2	C	0	0	0	10	0	8
1,0	D	1	1	2	10	20	8
5,0	E	1	2	3	10	30	8
10,0	F	5	5	10	10	100	8
50,0	G	5	5	10	10	100	8
100,0	H	5	5	10	10	100	8

Os resultados indicaram que a CE (I)50:48 horas deve estar situada entre as concentrações D e F. O teste definitivo foi, então, realizado utilizando-se concentrações entre este intervalo.

QUADRO 23 – TESTE DEFINITIVO / ROUNDUP

Concentração do i.a. mg/L	Amostra	N.ºOrganismos imóveis por réplica				N.ºOrganismos por concentração		% Imóveis	pH Final
		1	2	3	4	Imóveis	Total		
Controle	A	0	0	0	0	0	20	0	8
1,0	I	1	1	1	1	4	20	20	8
2,0	J	3	2	3	3	11	20	55	8
3,0	K	4	3	3	3	13	20	65	8
6,0	L	4	3	5	4	16	20	80	8
10,0	M	5	5	5	5	20	20	100	8

Os resultados demonstraram que a CE (I)50:48 horas deve estar situada entre as concentrações I e J, sendo os resultados submetidos à análise estatística (Anexo 6).

Cálculo estatístico:

A CE (I)50: 48 horas = 2,04 mg do i.a./L

O Intervalo de confiança (95 %) - Inferior: 1,48 mg do i.a./L

- Superior: 2,80 mg do i.a./L

Concentração mínima que provoca imobilidade total foi de: 10mg do i.a./L

Concentração máxima que não provoca imobilidade: 0,2mg do i.a./L

4.2.2 Produto Gramoxone

Os resultados do teste preliminar e definitivo estão respectivamente nos Quadros 24 e 25.

QUADRO 24 – TESTE PRELIMINAR / GRAMOXONE

Concen- tração do i.a. (mg/L)	Amostra	N.º/Organismos imóveis por réplica		N.º/Organismos por concentração		% Imóveis	pH Final
		1	2	Imóveis	Total		
Controle	A	0	0	0	10	0	8
0,1	B	0	0	0	10	0	8
0,2	C	0	0	0	10	0	8
1,0	D	1	0	1	10	10	8
5,0	E	2	2	4	10	40	8
10,0	F	5	5	10	10	100	8
50,0	G	5	5	10	10	100	8
100,0	H	5	5	10	10	100	8

Os resultados indicaram que a CE (I)50:48 horas deve estar situada entre as concentrações D e F. O teste definitivo foi, então, realizado utilizando-se concentrações entre este intervalo.

QUADRO 25 – TESTE DEFINITIVO / GRAMOXONE

Concentração do i.a. em mg/L	Amostra	N.º/Organismos imóveis por réplica				N.º/Organismos por concentração		% Imóveis	pH Final
		1	2	3	4	Imóveis	Total		
Controle	A	0	0	0	0	0	20	0	8
1,0	I	1	0	0	2	3	20	15	8
2,0	J	2	2	1	2	7	20	35	8
3,0	K	3	2	1	3	9	20	45	8
6,0	L	4	4	5	4	17	20	85	8
10,0	M	5	5	5	5	20	20	100	8

Os resultados demonstraram que a CE (I)₅₀:48 horas deve estar situada entre as concentrações J e L, sendo os resultados submetidos à análise estatística (Anexo 7).

Cálculo estatístico:

A CE (I)₅₀: 48 horas = 2,87 mg do i.a./L

O Intervalo de confiança (95 %) - Inferior: 2,20 mg do i.a./L

- Superior: 3,74 mg do i.a./L

Concentração mínima que provoca imobilidade total foi de: 10,0 mg do i.a./L

Concentração máxima que não provoca imobilidade: 0,2 mg do i.a./L

4.2.3 Produto Cefanol

Os resultados do teste preliminar e definitivo estão respectivamente nos Quadros 26 e 27.

QUADRO 26 – TESTE PRELIMINAR / CEFANOL

Concentração do i.a. (mg/L)	Amostra	N.º Organismos Imóveis por réplica		N.º Organismos por concentração		% imóveis	pH Final
		1	2	Imóveis	Total		
Controle	A	0	0	0	10	0	8
0,1	B	0	0	0	10	0	8
0,2	C	2	0	2	10	20	8
1,0	D	3	1	4	10	40	8
5,0	E	4	3	7	10	70	8
10,0	F	5	5	10	10	100	8
50,0	G	5	5	10	10	100	8
100,0	H	5	5	10	10	100	8

Os resultados indicaram que a CE (I)_{50:48} horas deve estar situada entre as concentrações C e uma concentração inferior a F. O teste definitivo foi, então, realizado utilizando-se concentrações entre este intervalo.

QUADRO 27 – TESTE DEFINITIVO / CEFANOL

Concentração do i.a. em mg/L	Amostra	N.º Organismos Imóveis por réplica				N.º Organismos por concentração		% imóveis	pH Final
		1	2	3	4	Imóveis	Total		
Controle	A	0	0	0	0	0	20	0	8
0,6	I	1	2	2	1	6	20	30	8
1,0	J	3	2	2	2	9	20	45	8
2,0	K	3	3	2	4	12	20	60	8
3,0	L	4	3	3	3	13	20	65	8
6,0	M	5	5	5	5	20	20	100	8

Os resultados demonstraram que a CE (I)_{50:48} horas deve estar situada entre as concentrações I e K, sendo os resultados submetidos à análise estatística (Anexo 8).

Cálculo estatístico:

A CE (I)50: 48 horas = 1,34 mg do i.a./L

O Intervalo de confiança (95 %) - Inferior: 0,81 mg do i.a./L

- Superior: 2,19 mg do i.a./L

Concentração mínima que provoca imobilidade total foi de: 6mg do i.a./L

Concentração máxima que não provoca imobilidade: 0,1mg do i.a./L

4.2.4 Produto Isatalonil 500 SC

Os resultados do teste preliminar e definitivo estão respectivamente nos quadros 28 e 29.

QUADRO 28 – TESTE PRELIMINAR / ISATALONIL 500 SC

Concentração do i.a. (mg/L)	Amostra	N.º Organismos Imóveis por réplica		N.º Organismos por concentração		% imóveis	pH Final
		1	2	Imóveis	Total		
Controle	A	0	0	0	10	0	8
0,1	B	2	2	4	10	40	8
0,2	C	3	4	7	10	70	8
1,0	D	5	5	10	10	100	8
5,0	E	5	5	10	10	100	8
10,0	F	5	5	10	10	100	8
50,0	G	5	5	10	10	100	8
100,0	H	5	5	10	10	100	8

Os resultados indicaram que a CE (I)50:48 horas deve estar situada entre as concentrações B e D. O teste definitivo foi, então, realizado utilizando-se concentrações entre este intervalo.

QUADRO 29 - TESTE DEFINITIVO / ISATALONIL 500 SC

Concentração do i.a. em mg/L	Amostra	N.º/Organismos imóveis por réplica				N.º/Organismos por concentração		% imóveis	pH Final
		1	2	3	4	Imóveis	Total		
Controle	A	0	0	0	0	0	20	0	8
0,1	I	2	2	2	2	8	20	40	8
0,2	J	4	4	3	4	15	20	75	8
0,3	K	5	5	5	5	20	20	100	8
0,6	L	5	5	5	5	20	20	100	8
1,0	M	5	5	5	5	20	20	100	8

Os resultados demonstraram que a CE (I)50:48 horas deve estar situada entre as concentrações I e J, sendo os resultados submetidos à análise estatística (Anexo 9).

Cálculo estatístico:

A CE (I)50: 48 horas = 0,12 mg do i.a./L.

O Intervalo de confiança (95 %) - Inferior: 0,07 mg do i.a./L.

- Superior: 0,20 mg do i.a./L.

Concentração mínima que provoca imobilidade total foi de: **0,3 mg do i.a./L.**

Concentração máxima que não provoca imobilidade: **inferior a 0,1 mg do i.a./L.**

4.2.5 Produto Dithane PM

Os resultados do teste preliminar e definitivo estão respectivamente nos Quadros 30 e 31.

QUADRO 30 - TESTE PRELIMINAR / DITHANE PM

Concentração do i.a. (mg/L)	Amostra	N.º Organismos Imóveis por réplica		N.º Organismos por concentração		% Imóveis	pH Final
		1	2	Imóveis	Total		
Controle	A	0	0	0	10	0	8
0,1	B	0	1	1	10	10	8
0,2	C	3	3	6	10	60	8
1,0	D	4	5	9	10	90	8
5,0	E	5	5	10	10	100	8
10,0	F	5	5	10	10	100	8
50,0	G	5	5	10	10	100	8
100,0	H	5	5	10	10	100	8

Os resultados indicaram que a CE (I)50:48 horas deve estar situada entre as concentrações B e D. O teste definitivo foi, então, realizado utilizando-se concentrações entre este intervalo.

QUADRO 31 – TESTE DEFINITIVO / DITHANE PM

Concentração do i.a. em mg/L	Amostra	N.º Organismos imóveis por réplica				N.º Organismos por concentração		% Imóveis	pH Final
		1	2	3	4	Imóveis	Total		
Controle	A	0	0	0	0	0	20	0	8
0,1	I	1	0	1	1	3	20	15	8
0,2	J	2	3	3	3	11	20	55	8
0,3	K	5	5	4	5	19	20	95	8
0,6	L	5	5	5	5	20	20	100	8
1,0	M	5	5	5	5	20	20	100	8

Os resultados demonstraram que a CE (I)50:48 horas deve estar situada entre as concentrações I e J, sendo os resultados submetidos à análise estatística (Anexo 10).

Cálculo estatístico:

A CE (I)₅₀: 48 horas = 0,18 mg do i.a./L

O Intervalo de confiança (95 %) - Inferior: 0,15 mg do i.a./L

- Superior: 0,21 mg do i.a./L

Concentração mínima que provoca imobilidade total foi de: **0,6 mg do i.a./L**

Concentração máxima que não provoca imobilidade: **inferior a 0,1 mg do i.a./L**

4.3 DISCUSSÃO

Analizando os valores da **CE (I)₅₀: 96 h** nos bioensaios com microalgas e da **CE (I)₅₀: 48h** nos bioensaios para microcrustáceos, pode-se notar que com exceção do produto *Cefanol* no teste de microalga (200,15 mg/L), os demais apresentaram valores significativamente baixos; ou seja, são produtos enquadrados na *classe toxicológica II* (Moderadamente Tóxicos) considerando os organismos não alvos da tabela de classificação toxicológica do IBAMA.

Porém, para efeitos de registros destes produtos eles estão classificados oficialmente da seguinte forma: Roundup *classe IV praticamente não tóxico*, Gramoxone *classe II moderadamente tóxico*, Cefanol *classe III pouco tóxico*, Dithane SC *classe III pouco tóxico* e Isatalonil 500 SC *classe I altamente tóxico*.

Constatou-se, a partir desses resultados, a necessidade emergencial para análises de risco e periculosidade ambiental pelo uso de agrotóxicos na região da Bacia do Rio Nhundiaquara, sobretudo em razão da toxicidade desses produtos e de suas características físico-químicas, o que pode indicar sua magnificação no comprometimento do solo e da água.

No entanto, entre as possibilidades de análise, há os que apontam as respostas das comunidades ou ecossistemas como sendo de maior relevância. Mas é preciso uma compreensão das interações entre as espécies – não levadas em conta em testes de bioensaios com uma única espécie – porque são também causas de alterações na dinâmica e estrutura de um ecossistema.

De forma geral, os testes de toxicidade são realizados em condições laboratoriais, as quais são bastante estáticas quando comparadas às condições naturais de campo. Assim, a questão passa a ser: qual a complexidade dos

sistemas testes que possam demonstrar de forma mais realista os efeitos das taxas de risco em comunidades naturais?

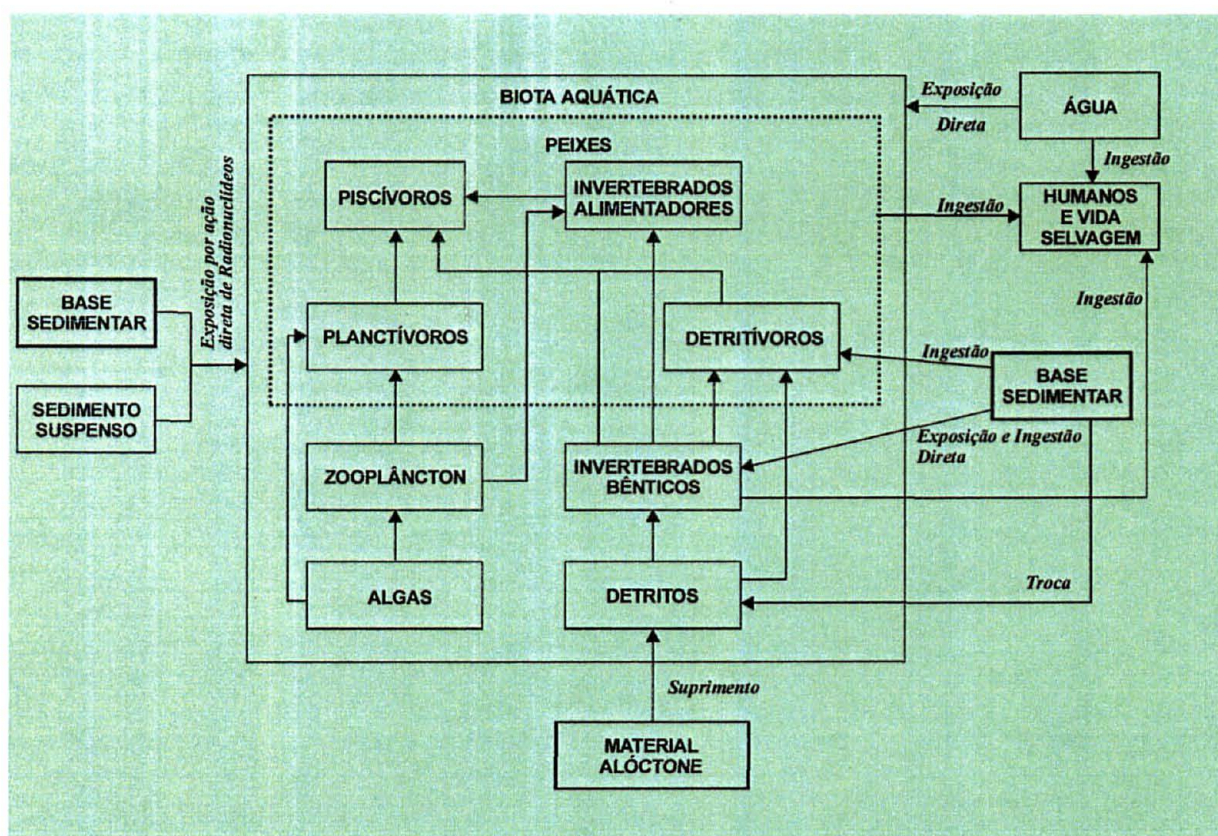
Esta constatação é bastante preocupante sobretudo em função da seletividade dos produtos. Cabe ressaltar que foram testados agrotóxicos das classes fungicidas, herbicidas e inseticidas.

Em análise, era de se esperar que os produtos fungicidas não fossem tão danosos para microalgas e os microcrustáceos. A mesma observação ocorreu entre os herbicidas, aí seletivo para as microalgas, mas causando letalidade em concentrações baixas para os microcrustáceos.

Estabelecer concentrações seguras para a presença de um agrotóxico no ambiente é, sem dúvida, tarefa difícil. Para efeito de se atribuir uma classificação quanto ao potencial de periculosidade ambiental de um agrotóxico, de seus componentes e afins são, inicialmente, atribuídas classificações individuais para os parâmetros considerados.

Conforme COOK *et al.* (1999), deve-se considerar os processos de fontes, transporte e exposição dos agrotóxicos para a cadeia trófica aquática (*Figura 2*).

FIGURA 2 – MODELO CONCEITUAL DE FONTES, TRANSPORTE E EXPOSIÇÃO DE AGROTÓXICOS PARA A CADEIA TRÓFICA AQUÁTICA



É preciso considerar as classificações específicas quanto a características físico-químicas, sua toxicidade a diversos níveis tróficos, bioacumulação, persistência e transporte e, ainda, devem ser analisados os potenciais mutagênicos, carcinogênicos e embriofetotóxicos, assim como as atribuições de uma classificação final global do produto, que resultam de uma análise processada no âmbito de uma equipe técnica constituída por profissionais de diversas especialidades, bem como de consultas a publicações técnicas especializadas e a banco de dados.

Os bioensaios de toxicidade para organismos aquáticos exigem a necessidade do uso de protocolos que constatem um mínimo de controle laboratorial; caso contrário, poder-se-á estar mascarando as respostas toxicológicas.

Neste estudo, fica evidente que todos os bioensaios apresentaram condições satisfatórias. A escolha dos organismos-teste foi feita em função dos

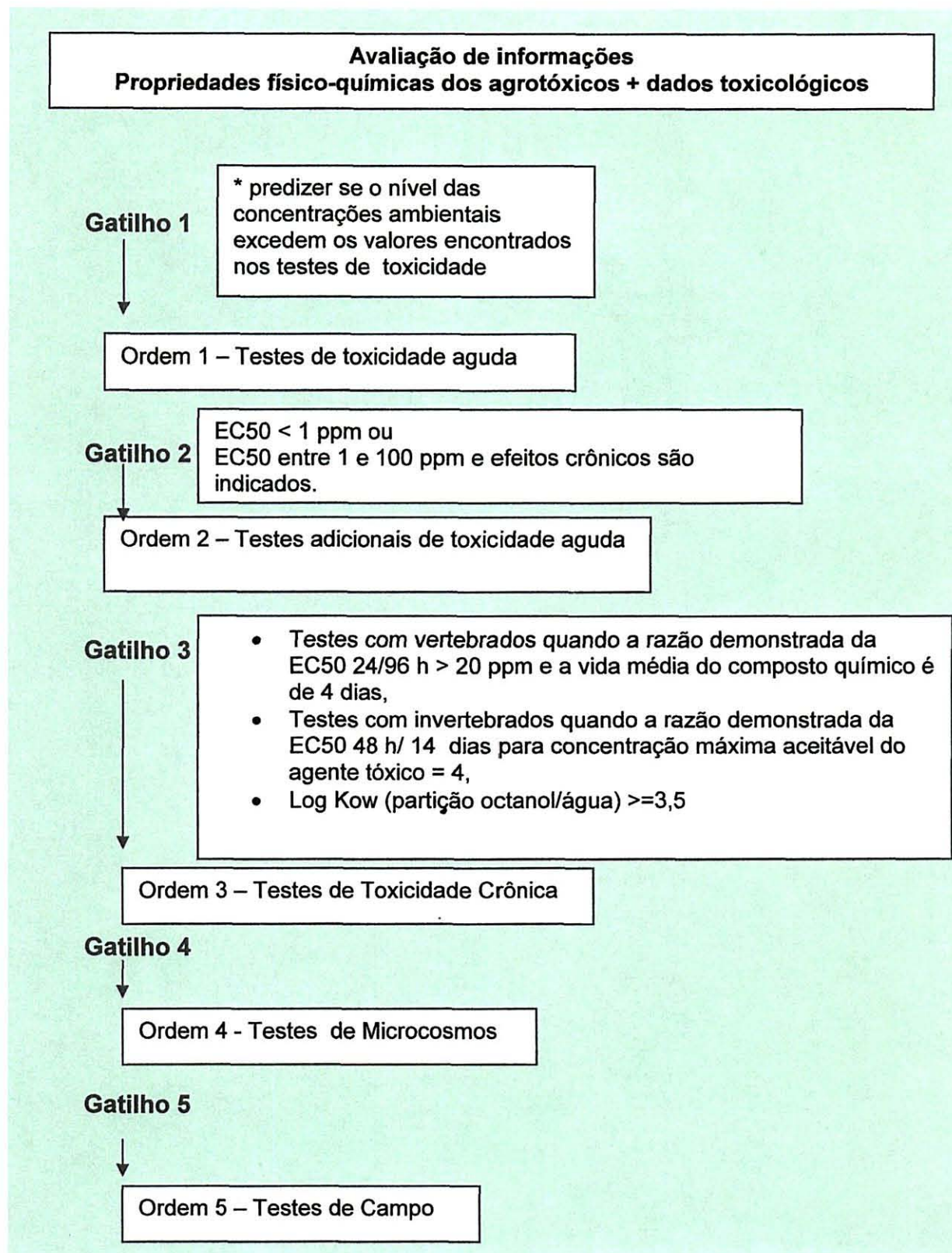
protocolos utilizados; isto é, a partir de recomendações internacionais na utilização destes organismos. Porém, deve-se estabelecer critérios apurados na escolha de organismos-teste em função da ecorregião estudada, o que representaria uma resposta ambiental mais próxima das perturbações locais (BASSFELD *et al*, 1999).

Apesar de promissores, estes estudos envolvem equipamentos e pessoal altamente especializados, o que poderia restringir sua utilização a curto e médio prazos.

O risco ambiental pela utilização de agrotóxicos é notório. Por isso, sugere-se como dados necessários para uma avaliação de risco os seguintes parâmetros (*Figura 3*):

- a) conhecimento das propriedades físico-químicas dos ingredientes ativos (ex. hidrólise, fotólise, solubilidade, ponto de fusão etc.);
- b) dados ecotoxicológicos compreendendo as interações ecológicas (ex. sucessão, recolonização, predação etc.) entre populações e comunidades, em contraste da toxicologia cujo foco são apenas para espécies monoespecíficas, em sistema de cultivo estanque;
- c) dados das concentrações estimadas de exposição (CEE), que corresponde a uma estimativa da concentração máxima do agrotóxico que pode ser encontrado no meio ambiente.

FIGURA 3 – SEQUÊNCIA DE TESTES EXIGIDOS PELO USEPA (1983),
PARA REGISTRO DE SUBSTÂNCIAS QUÍMICAS



No que se refere a aspectos legais, algumas posições obscuras do governo brasileiro estão em curso. De fato, o Governo assumiu o compromisso com o Grupo Mercosul, em 1996, de mudar a Lei Nacional de Agrotóxicos, nivelando-a por baixo para harmonizar as normas brasileiras com as (in)existentes nos países vizinhos (www.ambientebrasil.com.br).

O Governo teria que ter emendado a lei atual de agrotóxicos de 1989 para se adequar às exigências da Argentina, mas sabia que dificilmente teria conseguido aprovar tais mudanças no Congresso nacional. Agora se prepara para mudar por Decreto o que nunca teria conseguido fazer pela via democrática. Pior, pretende fazer isto de imediato, apesar da oposição que cresce inclusive nos Ministérios da Saúde e do Meio Ambiente.

São *destaques* na proposta de Decreto: retirar toda competência de avaliação toxicológica e ambiental, respectivamente do Ministério da Saúde e do IBAMA; permitir a simples inscrição de agrotóxicos argentinos no Brasil, sem passar por registro algum.

Basicamente, a proposta de Decreto objetiva retirar as atribuições legais da Secretaria de Vigilância Sanitária do Ministério da Saúde e do IBAMA, quanto ao registro e fiscalização de agrotóxicos no Brasil, e a respectiva avaliação dos impactos à saúde humana e ao meio ambiente, advindas de seu emprego.

Como justificativas, estão colocadas duas questões:

- a) a necessidade de internalização de resoluções baixadas em conjunto pelo do Mercosul e Bloco Andino (SGT-8 que discute com os países integrantes do tratado a questão dos fitossanitários, incluindo os agrotóxicos) e
- b) a busca de maior agilidade na sistemática de registro de agrotóxicos no país e decréscimo nos custos destes processos para as empresas fabricantes.

A estratégia escolhida pelo Ministério da Agricultura e Abastecimento (MAA) foi a elaboração de um decreto propondo nova regulamentação da LEI N.º 7.802, criando novas disposições sobre a pesquisa, a experimentação, a produção, a embalagem e rotulagem, o transporte, a utilização, a importação, a exportação, o destino final dos resíduos e embalagens, o registro, a classificação, o controle, a inspeção e a fiscalização de agrotóxicos seus componentes e afins.

Desta forma, seriam revogados os Decretos N.º 98.816, de 11 de janeiro de 1990; N.º 99.657, de 26 de outubro de 1990, e o de N.º 991, de 24 de novembro de 1993, que explicitam e regulamentam as competências dos três órgãos governamentais envolvidos com a área: MAA, MS e IBAMA.

A proposta de decreto já recebeu: **manifestação positiva** da Consultoria Jurídica do MAA (Proc. N.º 21000.004652/98-61) e **nota conjunta** assinada pelo Ministro da Agricultura, encaminhada pela Secretaria de Política Agrícola e a Secretaria de Defesa Agropecuária do MAA defendendo a aprovação do decreto.

As posições das autoridades governamentais precisam ser entendidas em, pelo menos, dois aspectos. O primeiro se refere ao plano interno. A racionalidade que vigora no MAA, quanto ao registro e emprego de agrotóxicos, é a do mercado, entendendo-se como a competição entre os gigantes transnacionais da área de pesquisa e a produção de agrotóxicos, em busca de novas fronteiras comerciais em nível global.

Assim, convivem no Brasil, de forma harmônica, os velhos agrotóxicos – alguns comercializados desde as décadas de sessenta e setenta e geralmente altamente tóxicos –, com as novas moléculas, resultado de longas pesquisas e investimentos de milhões de dólares.

É notório que a alegação de que se estimula o registro de novos produtos, na busca de melhor qualidade fitossanitária a um custo mais reduzido, não se sustenta. Os novos produtos considerados de menor toxicidade são mais caros e não há uma política de substituição dos produtos mais tóxicos, por meio de restrições de uso devidamente fiscalizadas ou – o mais racional – pela imposição da redução contínua de uso, até o banimento completo do produto.

O segundo aspecto a evidenciar a posição das autoridades governamentais se refere ao plano externo. Quanto ao Mercosul, as tentativas de harmonização das legislações sobre agrotóxicos entre os países-parte iniciaram ainda na primeira metade da década de 1990, sobretudo dentro do SGT-8, havendo uma disputa acirrada entre a Argentina e o Brasil em busca de uma saída econômica que contemple os interesses das empresas produtoras dos dois países. Entretanto, a lista de produtos aprovada para circularem no Mercosul inclui um bom número de

ingredientes ativos que vêm sendo restringidos e/ou banidos, principalmente pela Comunidade Econômica Européia.

Pode-se concluir que o decreto proposto pelo MAA é danoso à saúde humana e ao meio ambiente, pois retira ainda mais o controle do Estado em áreas já tão abandonadas.

Na prática, constata-se que ocorrem distorções ao longo do processo, as quais produzem efeitos deletérios para o ambiente e para a qualidade de vida em muitas áreas do país.

De fato, a aglomeração de áreas agricultáveis sem planejamento de localização e controle no uso de agrotóxicos, trouxe ao nosso cotidiano a poluição ambiental para estas áreas e suas conseqüências para a natureza e para o ser humano.

Assimilou-se um modelo agrícola sob os eixos da monocultura, da agroindústria e da exploração dos grãos, quando poder-se-ia ter uma agricultura mais diversificada, voltada predominantemente ao consumo interno.

A disponibilidade de consumo no mercado interno de substâncias e produtos de potencial toxicológico de difícil avaliação e controle é, atualmente, o centro das preocupações de instituições públicas e privadas, voltadas para a saúde pública, ao controle ambiental e à defesa do consumidor.

Considerando, por exemplo, a Bacia hidrográfica do Rio Nhundiaquara como unidade de intervenção, segundo o LANNA (1995), conceitua-se:

(...)a unidade de intervenção bacia hidrográfica é uma das alternativas de estabelecimento do sistema a ser gerenciado. Ela apresenta algumas vantagens e desvantagens. A vantagem é que a rede de drenagem de uma bacia consiste num dos caminhos preferenciais de boa parte das relações causa-efeito, particularmente aquelas que envolvem o meio hídrico. As desvantagens são que nem sempre os limites municipais e estaduais respeitam os divisores da bacia e, conseqüentemente, a dimensão espacial de algumas relações de causa-efeito de caráter econômico e político.

Desta forma, as demandas e oportunidades de uso e ocupação do solo ao longo da Bacia são hierarquizadas de forma distinta pelos diferentes segmentos sociais, sobretudo em função de valores que compartilham.

O direito ambiental brasileiro tem sua legislação especial derivada do art. 225 da Constituição Federal, cujo texto defende que o equilíbrio ambiental será

conquistado com a proteção das diversas formas de vida existentes e integradas entre si e ao espaço por elas ocupado.

Mesmo seres inanimados, como pedras e bancos de areia, compõem o meio ambiente protegido no Brasil porque são espaços onde formas de vida se desenvolvem mantendo os ciclos ecológicos por intermédio dos quais as diversas espécies vivem na natureza. Esta proteção seria realizada pelo princípio ambiental do poluidor-pagador.

Contudo, apesar da Constituição ter expresso em seu texto que se deve defender e preservar o meio para as presentes e futuras gerações, a dimensão alcançada pelo direito ambiental brasileiro ainda persiste em mensurar a proteção ambiental sob uma perspectiva do dano, como visto em outras áreas jurídicas.

Utilizando-se uma definição simplificada, ecologia estuda relações entre organismos e seu meio ambiente. Por meio de uma visão mais ampla, a ecologia holística analisa o ecossistema como um todo. Por sua vez, a ecologia reducionista esforça-se para entender relações ecológicas pela análise de um ou de poucos processos.

Ambas têm trazido idéias, percepções ou inspirações; mas, devido aos problemas atuais, a ecologia holística deve se fazer mais presente, sobretudo quando os objetos do estudo são sistemas complexos.

A obtenção de um conjunto de informações é extremamente dependente de estudos contínuos em diversas áreas, consideradas a ferramenta básica para a proposição de diretrizes ao manejo e à qualidade ambiental.

Embora tenha evoluído, o conhecimento está defasado para resolver as questões atuais; a ecologia reducionista examina a afinidade entre organismos e seu ambiente de modo que se faz necessário haver uma visão mais abrangente, com o apoio de uma nova ciência holística que seja capaz de resolver as complexas e multivariadas mudanças globais, uma ciência que possa trabalhar com sistemas irreduzíveis e ecossistemas ou uma ecosfera inteira.

Sistemas que podem ser reduzidos pela sua afinidade, como têm sido usados em mecanismos físicos – na situação ecológica de um ecossistema, pela sua afinidade – podem ser transferidos para outros ecossistemas. Tal pensamento reducionista é baseado na física Newtoniana.

O ecossistema se consiste de muitos componentes interativos, sendo impossível avaliar todas as afinidades. Mesmo que possível isso fosse, não conseguiríamos examiná-las cuidadosamente porque quando se trabalha as afinidades em meio natural ocorrem interações de outros processos, diferentemente de uma análise de laboratório onde as afinidades estão separadas de outros componentes do ecossistema, como ocorre nos bioensaios laboratoriais.

Na ecologia reducionista, não são considerados fatores externos; ou seja, não há interação entre todos os processos e componentes biológicos no ecossistema real, como mencionado anteriormente, em grande parte das características fisiográficas, ecológicas, sociais, entre outras, da Bacia do Rio Nhundiaquara.

Portanto, os resultados analíticos não são válidos para uma perspectiva que dê conta absolutamente do ambiente em questão. A necessidade de considerar-se essa integração é pertinente em função da forma que vem sendo conceituado o ecossistema; isto é, como um **complexo multidimensional socioeconômico e ecológico** (PUCCINI, 1971).

Entretanto, as experiências da abordagem ecossistêmica contemplam algumas dificuldades relacionadas à interdisciplinaridade, dos seus profissionais e o modo como eles o tratam conforme a estrutura de seus conhecimentos e experiências acadêmicas.

Devemos reconhecer então que, na abordagem de agroecossistemas, a similaridade entre ecossistemas naturais e manipulados pela integração das influências sociais e econômicas é controlada por fontes externas de energia e ainda, propositadamente, modificada por tecnologias químicas, mecânicas e pelo mais recente dilema ambiental – os organismos manipulados geneticamente.

Os problemas ambientais básicos são produzidos pelo imenso progresso, cujas conseqüências podem ser facilmente observadas. O desenvolvimento vem acarretando problemas com a devastação da biodiversidade, a redução da camada de ozônio, que atua como protetora contra os raios UV, uma drástica mudança no clima até o próximo século e a carência de importantes recursos naturais. Além dos danos irreversíveis causados pela chuva ácida, o uso indiscriminado de agrotóxicos

leva à escassez de água potável de boa qualidade, deixando a humanidade em crise.

Do ponto de vista político-econômico, não se pode deixar de incluir entre as causas de tais dificuldades a tendência de globalização nas diversas áreas da cultura, de acordo com o que aponta o autor uruguaio BELLO (2001), conforme a tradução seguinte:

Essa igualização de culturas, que obedece a razões de mercado, é um crime à diversidade e um atentado a séculos de civilização. Gente colonizada pelo consumo, com cinquenta canais que não tem tempo de ver. Gente que se arrasta e é arrastada. Gente em manada, que não sabe aonde vai, manada que destrói. Manada de gente destruída.

(...)

O liberalismo econômico imposto submete a quem o compartilha e a quem não, sem dar opção de escolha; assim todos de alguma maneira são arrastados por sua força centrífuga ou padecem suas consequências.

O geógrafo SANTOS (2000) também denuncia a perversidade presente na relação do homem com a natureza, atualmente, destacando:

É irônico recordar que o progresso técnico aparecia, desde os séculos anteriores, como uma condição para realizar essa sonhada globalização com a mais completa humanização da vida no planeta. Finalmente, quando esse progresso técnico alcança um nível superior, a globalização se realiza, mas não a serviço da humanidade. (...) A globalização mata a noção de solidariedade, devolve o homem à condição primitiva do cada um por si e, como se voltássemos a ser animais da selva, reduz as noções de moralidade pública e particular a um quase nada.

Desse modo, no que diz respeito à preservação da vida, ainda que muitos já se debrucem sobre as formas de enfrentar as contradições de nosso tempo, devido à complexidade e inerente variabilidade dos sistemas naturais, é ainda muito difícil prever riscos, mesmo com base em respostas biológicas.

5 CONCLUSÕES E RECOMENDAÇÕES

O particular interesse do autor, estabelecido ao longo desta dissertação, foi o de expressar a percepção cognitiva de uma interação complexa no âmbito multidisciplinar. Os bioensaios laboratoriais para os organismos aquáticos testados, utilizando-se como substância-teste os agrotóxicos Roundup, Dithane PM, Isatlonil 500 SC, Cefanol e Gramoxone, são uma ferramenta fundamental num processo de registro e homologação de agrotóxicos no Brasil.

Assim, conclui-se que:

- a) muito já é conhecido acerca dos agrotóxicos, não obstante tratar-se de uma área ainda bastante carente de estudos; ou seja, relativos às análises de risco;**
- b) os agrotóxicos testados, com exceção ao Cefanol, não apresentaram diferenças de seletividade para as microalgas e os microcrustáceos;**
- c) a avaliação de toxicidade por meio da determinação da $CE(I)_{50}$ constitui uma primeira tentativa de alerta a um problema ambiental importante como por exemplo o relacionado aos recursos hídricos;**
- d) os bioensaios apresentaram resultados fidedignos, conforme os protocolos utilizados;**
- e) os resultados evidenciaram a necessidade de estudos futuros relativos à toxicidade para organismos aquáticos da ecoregião estudada;**
- f) as informações fornecidas pelos testes de toxicidade complementam de forma relevante as informações necessárias para que haja conhecimentos mais complexos da qualidade das águas da Bacia do Rio Nhundiaquara;**
- g) diante dos atuais parâmetros em geral analisados, para a estimativa da qualidade das águas, pouco se conhece dos resíduos de agrotóxicos neste meio no Brasil;**
- h) os estudos servirão para a melhora da prestação de serviços conservacionistas com o objetivo de se preservar os recursos naturais;**
- i) é preciso intensificar a promoção de atividades educacionais para preservação da sanidade animal, vegetal e do solo, de modo que a busca permanente e o**

aumento da qualidade e da produtividade agrícola tenham de fato uma situação de sustentabilidade.

Como sugestões para trabalhos futuros, recomenda-se:

- a) testes de multiespécies (microcosmos);
- b) estudos de campo estabelecendo as cargas de balanço das Concentrações Estimadas de Exposição (CEE);
- c) utilização de métodos de química analítica refinada, como por exemplo cromatografia gasosa para a determinação dos teores de agrotóxicos no solo e na água;
- d) utilização de métodos estatísticos para análises paramétricas e não paramétricas;
- e) um esforço maior no âmbito legal para se rever a legislação de agrotóxicos e afins no Brasil, sobretudo as análises de risco ambiental;
- f) por fim, uma dedicação efetiva de pesquisadores, técnicos, órgãos ambientais, entre outros para mais bem se compreender as análises sistêmicas.

Diante de todo o progresso técnico-científico da contemporaneidade, vale destacar que a utilização dos agrotóxicos é, sem dúvida, um dilema, cujo impasse consiste em ter o homem que, por um lado, produzir alimentos para a satisfação de uma necessidade básica e, por outro, consegui-lo sem causar danos ambientais por meio dos quais também coloca em risco a sobrevivência da própria espécie.

Reconhecer como desafio a tarefa de buscar um equilíbrio entre o que seja da ordem da subsistência do Planeta e da produtividade voltada a interesses econômicos, implica complexo empenho multidisciplinar. Isso porque uma das questões observadas é uma tendência, não rara, de desqualificação mútua entre os atores das diversas áreas do conhecimento.

Muitas vezes, de maneira onipotente, não se considera a necessidade de uma visão holística do mundo. No entanto, construí-la significa aceitar esse caminho

numa perspectiva mais solidária, tentando encontrar soluções para as dificuldades de nosso tempo quanto ao que se discutiu nesta dissertação.

Assim, para além do aspecto acadêmico-científico, é necessário uma abertura nas inter-relações que permeiam a construção do conhecimento historicamente acumulado, para que se situe também no campo da cidadania intervenções que já não podem ser mais adiadas.

E, nesta perspectiva, todos somos responsáveis em manifestar sob as diversas formas de participação nosso interesse pela conservação da natureza e, por efeito, pela valorização da vida.

REFERÊNCIAS

ABNT. (1993). **Água: ensaio de toxicidade aguda com *Daphnia similis* Claus, 1876 (Cladocera, Crustacea).** [S.l. : s.n.].

ABTEILUNG FÜR PFLANZENSCHUTZMITTEL UND ANWENDUNGSTECHNIK. (1993). **Criteria for assessment of plant protection products in the registration procedure.** Biologische Bundesanstalt für und Forstwirtschaft Braunschweig. Kommissionsverlag paul Parey, Berlin. 120 p.

ABU-ZEID, M. A. (1998). Water and sustainable development: the vision for world water, life and the environment. **Water Policy**, [S.l.], v 1, p. 9-19.

AFNOR. (1980). **Essais des eaux: détermination de l'inhibition de *Scenedesmus obspicatus* par une substance: Norme Experimentale T 90-304.** [Paris].

ALPHANDÉRY, P.; BITOUN, P.; DUPONT, Y. (1992). **O equívoco ecológico.** São Paulo: Brasiliense. 142 p.

APHA. (1985). **Standard methods for the examination of water and wastewater**, 16. ed. Washington: American Public Health Association. 1260 p.

BAILEY, H.C.; DIGIORGIO, C.; KROLL, K.; MILLER, J.L.; HINTON, D. E. ; STARRETT, G. (1996). Development of procedures for identifying pesticides toxicity in ambient waters: carbofuran, diazinon, chlorpyrifos. **Environ. Toxicol. Chem.**, New York, v. 15, p. 837-845.

BARRETO, H.H.C.; INIMATA, O.N.; LEMES, V.R.R.; KUSSUMI, T.A.; SCORSAFAVA, M.A.; ROCHA, S.O.B. (1996). Monitoramento de resíduos de pesticidas em alimentos comercializados no Estado de São Paulo. **Pesticidas**, São Paulo, v. 6, p. 105-130.

BASSFELD, J.C.; SHOOK, D.D. (1997). **Ecotoxicology: basic approaches. Pesticidas: Ecotoxicologia e Meio Ambiente**, Curitiba, v.7, p. 1-16.

BATESON, G. (1979). **Mind and nature: a necessary unity.** New York: Dutton. 308p.

BASSFELD, J.C.; QUEIROZ, R.L.V.; BRANDINI, F.P.; FERNANDES, L.F. (1999). Avaliação de um bioensaio de multiespécie utilizando o fitoplâncton marinho natural. **Pesticidas: Revista de Ecotoxicologia e Meio Ambiente**, Curitiba, v. 9, p. 75-84.

BATISTA, G. C. (1989). **Química de pesticidas.** Trabalho apresentado no 1. Seminário de Resíduos de Pesticidas. Instituto de Tecnologia de Alimentos: Governo do Estado de São Paulo, p. 1-28.

BELLO, G. (2001). **Desarrollo humano sustentable – Análisis y propuesta.** Montevideo, Uruguay: Edición Solidaria., p. 29.

BIGARELLA, J.J. (1946). Contribuição ao estudo da planície litorânea do estado do Paraná. **Arq. Biol. Tecnol.**, Curitiba, v. 1, p. 75-111.

_____. (1974). **Segurança Ambiental: uma questão de consciência... e muitas vezes de segurança nacional.** [S.l.: s.n.]. 65 p.

_____. (1978). **A Serra do Mar e a porção oriental do Estado do Paraná: contribuição à geografia, geologia e ecologia regional.** Curitiba. 249 p.

BJERREGAARD, R. (1998). Getting Europe's waters cleaner: getting the citizens involved. **Water Policy**, [S.l.], v.1, p. 73-80. 1998.

BLANKLEY, W.F. (1973). Toxic and inhibitory materials associated with culturing. In: **Handbook of phycological methods, culture methods and growth easurements.** [S.l.]: Cambridge University Press, U.K. 447 p.

BOLETIM TÉCNICO [da] EMBRAPA / IAPAR. (1977). Levantamento de reconhecimento dos solos do Litoral do Paraná. Curitiba. 128 p.

BRASIL. (1994). Ministério do Meio Ambiente e da Amazônia Legal. IBAMA. Portaria Normativa n. 139, de 21 de dezembro de 1994. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, 22 dez. p. 20271-20273.

BRASIL. (1996). Ministério do Meio Ambiente e da Amazônia Legal. IBAMA. Portaria Normativa n. 84, de 15 de outubro de 1996. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, 18 out.

CAIRNS JUNIOR, J. & PRATT, J. R. (1989). The Scientific Basis of Bioassays. **Hydrobiologia**, Dordrecht, v. 188-189, p. 5-20.

CAPRA, J. (1996). **The web of Live: a New Scientific Understanding of Living Systems.** New York: Simon & Schuster. 256 p.

CASTILHO, J.A.A.; FENZL, N.; GUILLEN, S.M.; NASCIMENTO, F.S. (1996). Resíduos de pesticidas organoclorados e organofosforados na bacia do rio Atoya, Chinandega, Nicarágua. **Pesticidas**, São Paulo, v. 6, p. 105-130.

CASTILHO, L.E.; DE LA CRUZ, E.; RUEPERT, C. (1997). Ecotoxicology and pesticides in tropical aquatic ecosystems of Central America. **Environ. Toxicol. Chem.**, New York, v. 16, p. 41-51.

CASTORIADIS, C. (1992). **Le capitalism est-il soluble dans l'écologie?** Le Nouvel Observateur, Collection Dossiers, n. 11.

CETESB. (1986a). **Lavagem de materiais utilizados em ensaios biológicos: Procedimento Operacional Padronizado**, n. 8. São Paulo. p. 1-14.

_____. (1986b). **Água: teste de toxicidade com *Chlorella vulgaris*: método de ensaio**: Norma Técnica L5.020. São Paulo. 15 p.

_____. (1987). **Análise estatística de resultados de testes de toxicidade Aguda**: Norma Complementar L5.017. São Paulo. 29 p.

_____. (1991). **Teste de toxicidade aguda com *Daphnia similis* Claus, 1876 Cladocera, crustacea**: método de ensaio. Norma Complementar L5.018. São Paulo.

CIÊNCIA HOJE. (1986). Defensivos agrícolas ou agrotóxicos? Rio de Janeiro, v. 4, n 22, p. 41-64.

COOK, R.B.; SUTERII, G.W.; SAIN, E.R. (1999). Ecological risk assessment in a large river reservoir: introduction and background. **Environ. Toxicol. Chem.**, Elmsford, v. 18, n. 4, p. 581-588.

CORNADARI, V.G.; GIRARDI, V.A.V. (1969). Geologia da folha de Morretes. **Bol. Geol. UFPR**, Curitiba, n. 26, 40 p.

DORES, E. F. G. C; FREIRE, E. M. L. (1999). Contaminação do ambiente aquático por pesticidas. Vias de contaminação e dinâmica dos pesticidas no ambiente aquático. **Pesticidas: Ecotoxicologia e Meio Ambiente**, Curitiba, v.9, p. 1-30.

EMATER. (1995). **Diagnóstico regional**. Paranaguá. 80 p.

FAO. (1980). Critérios ecológicos para o registro de praguicidas. **Boletim Fitossanitário da FAO**, Roma, v. 28, n. 2. 63 p.

FILLMANN, G. (1996). The aquatic system from southern of Brasil: some hydrological aspects and potential contamination problems by sybthetic organic compounds. In: SEMINÁRIO INTERNACIONAL – Água do seu conhecimento como base para o uso e manejo sustentável, 1996, Buenos Aires. **Anais...** Buenos Aires. p.357-363.

FRITZSONS, E. (1999). **Avaliação do impacto da contaminação por nitrogênio na bacia hidrográfica cárstica de fervida/Ribeirão das Onças – Colombo/PR**. Curitiba. 164 f. Dissertação (Mestrado em Eng. Florestal) – Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná.

GARRETT, L.(1994). **The coming plague: newly emerging diseases in a world out of balance**. New York : Farrar, Straus: Giroux. 512 p.

GEORGESCU-ROEGEN,N. (1971). **The entropy law and the economic process**. Cambridge: Harvard University Press. 228 p.

GIDDINGS, J. M.; HELM, R. L.; DENOYELLES JUNIOR, F. J. (1994). Large-Scale outdoor aquatic microcosm: tools for ecological assessment of pesticides. In: HILL, I. R.; HEIMBACH, F.; LEEUANGH, P.; MATTHIESSEN, P. (Eds.). **Freshwater field tests for hazard assessment of chemicals**. Boca Raton: Lewis, p. 191-198.

GIESY, J.P.; GRANEY, R.L. (1989). Recent developments in and intercomparisons of acute and chronic bioassays and bioindicators. **Hydrobiologia**, Dordrecht, v. 188-189. p. 21-60.

GOLDSMITH, E. (1992). **The way an ecological world-view**. Londres: Rider. 144 p.

GRUESSNER, B.; WATZIN, M.C. (1996). Response of Communities from Vermont Stream to Environmentally realistic Atrazine exposure in Laboratory Microcosms. **Environ. Toxicol. Chem.**, Elmsford, v. 15, p. 410-419.

HAMILTON, M. A.; RUSSO, R.C.; THURSTON, R.V. (1978). Trimmed Spearman-Kärber method for estimating median lethal concentrations in toxicity bioassays. **Environ. Sci. Technol.**, Washington, v. 12, n. 4, p. 417.

HAMILTON, R.D. (1973). Sterilization. In: **Handbook of phycological methods, culture methods and growth measurements**. [S.l.]: Cambridge University Press, U.K. 447 p.

HASTINGS, A.; HOM, C.L.; ELLNER, S.; TURCHIN, P.; GODOFRAY, H.C.J. (1993). Chaos in ecology: is mother nature a strange attractor? **Annu. Ver. Ecol. Sust.**, [S.l.], p. 24-33.

HENRIQUES, W.; JEFFERS, R.D.; LACHER, T.E.; KENDALL, R.J. (1997). Agrochemical use on banana plantations in Latin America: perspectives on ecological risk. **Environ. Toxicol. Chem.**, New York, v. 16, p. 91-99.

HOWARTH, R. W. (1989). Determining the ecological effects of oil pollution in marine cosystems. In: LEVIN, S. A.; KELLY, J. R.; HARWELL, M. A.; KIMBALL, K.D. (Eds.). **Ecotoxicology: problems and approaches**. New York: Springer-Verlag, p. 69-87.

IAPAR. (1978). **Cartas Climáticas básicas do Estado do Paraná**. Londrina: [s.n.]. 38 p.

IBAMA. (1990a). Avaliação da toxicidade para aguda para *Daphnia similis* (Cladocera, crustacea). **Manual de testes para avaliação de ecotoxicidade de agentes químicos**. 2. ed. Brasília. (Teste D.2.1).

_____. (1990b). Avaliação da toxicidade para algas. **Manual de testes para avaliação de ecotoxicidade de agentes químicos**. 2. ed. Brasília. (Teste D.4).

IPARDES. (1989). **Zoneamento do Litoral Paranaense**. Curitiba. 174 p.

_____. (1994). **A vegetação Natural do estado do Paraná**. Curitiba. p. 1-35.

JØRGENSEN, S. E. (1992). **Ecology & Environmental Integration of Ecosystem Theories : a Pattern**. Amsterdam : Kluwer, 383 p.

JØRGENSEN, S. E.; PATTEN, B. C.; STRASKRABA, M. (1992). Ecosystem Emerging: toward and ecology of complex system in a complex future. **Ecological Modelling**, Amsterdam, v. 62, p.1-27.

JUNG, C.G. (1992). **O Homem e seus símbolos**. Rio de Janeiro: Nova Fronteira.

JUNGSTEDT, L.O.C. (1999a). Leis n. 7802/89: Lei dos agrotóxicos. In: **Direito Ambiental**. [S.l.: s.n.]. 407 p.

_____. (1999b). Leis n. 9605/89: Lei de crimes ambientais. In: **Direito Ambiental**. [S.l.: s.n.]. 407 p.

KAWANABE, H.; OHGUSHI, T.; HIGASHI, M. (1990). **Ecology for Tomorrow**. [S.l.]: Editorial office: Department of Zoology, Kyoto University, Japan, p.1-9.

KELLY, J.R.; HARWELL, M. (1989). A Indicators of ecosystem response and recovery. In: LEVIN, S. A.; KELLY, J. R.; HARWELL, M. A.; KIMBALL, K.D. (Eds.). **Ecotoxicology: problems and approaches**. New York: Springer-Verlag. p. 9-32.

KUSK, O. K.; NYHOLM, N. (1991). Evaluation of phytoplankton toxicity test for water pollution assessment and control. **Arch. Environ. Contam. Toxicol.**, New York, v. 20, p. 375-379.

LACERDA, L.D.; SCHAEFFER-NOVELLI, Y. (1992). Latin American Mangroves: the need for sustainable utilization. **Mangroves News Letter**, [S.l.], n. 5, p. 4-6.

LAMPERT, W.; FLECKNER, W.; POTT, E.; SCHÖBER, U.; STÖRKEL, K.U. (1989). Herbicide effects on planktonic systems of different complexity. **Hydrobiologia**, Dordrecht, v. 188-189, p. 415-424.

LANDIS, W.G.; MATTHEWS, R.A.; MATTHEWS, G.B. (1996). The layered and historical nature of ecological systems and the risk assessment of pesticides. **Environ. Toxicol. Chem.**, New York, v. 15, p. 432-440.

LANNA, A.E.L. (1995). **Gerenciamento de bacia hidrográfica: aspectos conceituais e metodológicos**. Brasília: Inst. Bras. Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis. 171 p.

LEVIN, S. A.; HARWELL, M. A.; KELLY, J.R.; KIMBALL, K.D. (1989). **Ecotoxicology: problems and approaches**. In: LEVIN, S. A.; KELLY, J. R.; HARWELL, M.A.; KIMBALL, K.D. (Eds.). New York : Springer-Verlag. p. 1-3.

LOVELOCK, J. (1979). **Gaia**. New York: University Press. 136 p.

MAACK, R. (1968). **Geografia Física do Estado do Paraná**, Curitiba: UFPR: Inst. de Biologia e Pesquisa Tecnológicas. 350 p.

_____. (1981). **Geografia Física do Estado do Paraná**. 2. ed. Rio de Janeiro: José Olympio. 450 p.

MAJEWSKI, M.S.; COPEL, P.D. (1995). **Pesticides in the atmosphere distribution, trends and governing factors**. Chelsea, Michigan: Ann Arbor Press. 228 p.

MANTOVANELLI, A. (1999). **Caracterização da dinâmica hídrica e do material particulado em suspensão na Baía de Paranaguá e em sua bacia de drenagem**. Curitiba. 151 f. Dissertação (Mestrado em Geologia Ambiental) – Setor de Ciências da Terra, Universidade Federal do Paraná.

MANUAL TÉCNICO DE VEGETAÇÃO BRASILEIRA. [19–]. Sistema Fitogeográfico. [S.l.: s.n.]. p. 10-37.

MARCHIORO, N.P.X. (1999). A sustentabilidade dos sistemas agrários do litoral do Paraná: meio ambiente e desenvolvimento no litoral do Paraná, Curitiba, p. 61-71. No prelo.

MAURER, B.A.; HOLT, R.D. (1996). Effects of chronic pesticides stress on wildlife populations in complex landscapes: processes at multiple scales. **Environ. Toxicol. Chem.**, Elmsford, v. 15, p. 420-426.

MILLER, W.E.; GREENE, J.C.; SHIROYAMA, T. (1978). The *Selenastrum capricornutum* Printz Algal Assay Bottle Test, EPA 600/9-78-018, Corvallis, OR.

MINEROPAR. (1990). **Levantamento das potencialidades minerais dos municípios: Antonina, Guaraqueçaba e Morretes**. Curitiba. 119 p.

MOORE, S. (1984). **Organic chemicals in natural waters: applied monitoring assessment chlorinated pesticides**. New York: Springer Verlag, p. 88-109.

MORIFUSA, E. (1976). **Organophosphoro pesticides: organic and biological chemistry**. Washington: CRC, p 380.

MÜHLHAUSER, H.A. (1994). Ecólogos + economistas impacto ambiental, o como debieramos valorar los ecosistemas? **Medio Ambiente**, [S.l.], v. 12, n. 1, p. 93-101.

MUNAWAR, M.; SEVERN, S. T.; MAYFIELD, C. I. (1991). Application of a microcomputer-based algal fluorescence technique for assessing toxicity: Lake St. Clair and St. Clair River examples. **Hydrobiologia**, Dordrecht, n. 219, p. 317-324.

NAIZOT, T. (1993). **Geographie de la Baie de Paranagua (Parana – Brésil). Apport des données satellitaires a l' étude des marais a mangroves**. [S.l.]. 270 f. These (Doctorat de L' école des Hautes Etudes en Sciences Sociales).

NICHOLS, H.W. (1973). Growth media: freshwater. In: **Handbook of Phycological methods, culture methods and growth measurements**. [S.I.] : Cambridge University Press, U.K. 447 p.

NIEDERLEHNER, B. R.; PONTASCH, K. W.; PRATT, J.R.; CAIRNS JUNIOR, J. (1990). Field Evaluation of Predictions of Environmental Effects from a Multispecies-Microcosm Toxicity Test. **Arch. Environ. Contam. Toxicol.**, New York, v. 19, p. 62-71.

NUNES, G.S.; RIBEIRO, M.L. (1999). Pesticidas: uso, legislação e controle. **Pesticidas: Revista de Ecotoxicologia e Meio Ambiente**, Curitiba, v. 9, p. 31-44.

OECD. (1983). Guidelines for testing of chemicals. **Effects on biotic systems: *Daphnia* sp.**, 24h EC50 Acute Immobilization test. [S.I.]. Section 2-202, Part I.

PAASIVIRTA, J. (1991). **Chemical Ecotoxicology**. Boca Raton : Lewis. 168 p.

PANITZ, C.M.N.; PORTO FILHO, E. (1995). O manguezal do rio Caveiras, Biguaçu-SC um estudo de caso. IV: principais tensores e capacidade de recuperação do ecossistema. **Oecologia Brasiliensis**, [S.I.], p 543-556.

PASCHOAL, A.D. (1979). **Pragas e praguicidas e crise ambiental: problemas e soluções**. Rio de Janeiro : Fundação Getúlio Vargas, 162 p.

PAULA LIMA, W. (1986). Princípios de Hidrologia Florestal para o Manejo de Bacias Hidrográficas. São Paulo: ESALQ, USP. p. 241.

PIANARO, A.; QUINTINO, M. J. (1978). Características físicas das bacias hidrográficas do leste paranaense. In: ENCONTRO NACIONAL DE GEÓGRAFOS, 3., 1978, Fortaleza. **Anais...** Fortaleza: [s.n.]. p. 6.

PUCCINI, D.S.P. (1971). Ecological models and environmental studies. **Water Resour. Bull.**, Urbana, v. 7, p. 1144-1152.

RAND, G.M.; PETROCELLI, S.R. (1985). **Fundamentals of aquatic toxicology: methods and applications**. New York : Hemisphere Publishing Corporation. 666 p.

SANTOS, M. (2000). **Por uma outra globalização – do pensamento único à consciência universal**. Rio de Janeiro: Record, p. 64-65.

SERAGELDIN, I. (1998). Water in the 21st century: some issues. **Water Policy**, [S.I.], v. 1, p. 123-127.

SETAC. (1992). Workshop on aquatic microcosms for ecological assessment of chemicals. In: RESOLVE Program of the World Wildlife Fund, 1992, [S.I.]. **Anais...** [S.I.: s.n.]. p. 1-56.

SMITH, E. (1992). Risk assessment for Human and Environmental Health Protection. In: REYES, F. G. R.; ALMEIDA, W. F. (Eds.). **Toxicologia Prospectiva y Seguridad Química**. Metepec: PISSQ. p. 35-51.

SPAWN, R.L.; HOAGLAND, K.D.; SIEGFRIED, B.D. (1997). Effects of alachlor on an algal community from a Midwestern agricultural stream. **Environ. Toxicol. Chem.**, Elmsford, v. 16, p. 785-793.

STRASKRABA, M. (1995). Cybernetic Theory of Complex Ecosystems. In: Patten, B.C.; JØRGENSEN, S.E. (Eds.). **Complex Ecology: the part-whole relation in ecosystems**. N.Jersey: Prentice Hall PTR. 411 p.

SOLOMON, K. R.; BAKER, D. B.; RICHARDS, R. P.; DIXON, K. R.; KLAINE, S. J., LA POINT, T. W.; KENDALL, R. J.; WEISSKOPF, C. P.; GIDDINGS, J. M.; GIESY, J. P.; HALL JUNIOR, L. W.; WILLIAMS, W. M. (1996). Ecological Risk Assessment of Atrazine in North American Surface Waters. **Environ. Toxicol. Chem.**, New York, v. 15, p. 31-76.

SUMMERTON, N. (1998). The British way in water. **Water Policy**, [S.I.], v. 1, p. 45-65.

DEUTSCHE INSTITUT FÜR NORMUNG - DIN. (1989). Testverfahren mit wasserorganismen (Gruppe L). Bestimmung der nicht akut giftigen Wirkung von Abwasser gegenüber Daphnien über Verdünnungsstufen. Norma DIN 38412 Teil 30. Berlin: DIN, 1989. (L 30).

TROPPEMAIR, H. (1990). Perfil Fitoecológico do Estado do Paraná. **Bol. Geografia UEM**, Maringá, v. 8, n. 1, p.

U.S. Environmental Protection Agency: framework for ecological risk assessment. (1992). Washington: EPA/630/r-92/001. 41 p.

USEPA. (1983). **Testing for environmental effects under toxic substances control act support document, ecological effects branch**. Washington: Office of Toxic Substances. 41 p.

_____. (1986). Hazard evaluation standard evaluation procedure. Washington: [s.n.], (EPA/540/9-001). 95 p.

_____. (1991a). **Methods for measuring the acute toxicity of effluents and receiving waters to freshwater and marine organisms**. 4. ed. Washington: Office of Research and Development, (EPA/600/4-90/027). 298 p.

_____. (1991b). **Methods for measuring the acute toxicity of effluents and receiving waters to freshwater and marine organisms**. Cincinnati, Ohio. 293 p.

VOYRER, R. A., HELTSHE, J. F. (1984). Factor interactions and aquatic toxicity testing. **Water Res.**, Oxford, v. 18, p. 441-447, 1984.

WHITE, G. F. (1998). Reflections on the 50 year international search for integrated water management. Water Policy, [S.I.], v.1, p. 21-27. 1998.

WOLFF, P. (1999). On the sustainability of water use. Natural Resources and Development, Paris, v. 49-50, p. 9-28.

WHO. [19-]. Orientações para o estudo de ingestão de alimentos contaminados por substâncias químicas. Geneva: [s.n.].

ZAGATTO, P.A. (1993). Avaliação de risco para homologar agrotóxicos. Ambiente, [S.I.], v.7, p. 23-28.

ANEXOS

BURLINGTON RESEARCH, INC.
TRIMMED SPEARMAN-KARBER METHOD FOR CALCULATION OF
EC50 AND LC50 VALUES IN BIOASSAYS

FOR REFERENCE, CITE
M.A. HAMILTON, R.C. RUSSO, AND R.V. THURSTON, 1977.
TRIMMED SPEARMAN-KARBER METHOD FOR ESTIMATING MEDIAN
LETHAL CONCENTRATIONS IN TOXICITY BIOASSAYS.
ENVIRON. SCI. TECHNOL. 11(7) 714-719
CORRECTION 12(4) 417 (1978).

DATE_____20-06-1999
TEST #_____001-99-algas
CHEMICAL_____Roundup
SPECIES_____Selenastrum capricornutum
DURATION_____96 h

» RAW DATA

CONCENTRATION (mg/L)	1.00	2.00	3.00	6.00	10.00
NUMBER EXPOSED	100	100	100	100	100
MORTALITIES	38	58	61	65	76
SPEARMAN-KARBER TRIM			38.00		
SPEARMAN-KARBER ESTIMATES		eC50		1.5685976	
		95% LOWER CONFIDENCE		1.16	
		95% UPPER CONFIDENCE		2.12	

ANEXO 1

BURLINGTON RESEARCH, INC.
TRIMMED SPEARMAN-KARBER METHOD FOR CALCULATION OF
EC50 AND LC50 VALUES IN BIOASSAYS

FOR REFERENCE, CITE

M.A. HAMILTON, R.C. RUSSO, AND R.V. THURSTON, 1977.
TRIMMED SPEARMAN-KARBER METHOD FOR ESTIMATING MEDIAN
LETHAL CONCENTRATIONS IN TOXICITY BIOASSAYS.
ENVIRON. SCI. TECHNOL. 11(7) 714-719
CORRECTION 12(4) 417 (1978).

DATE_____20-06-1999
TEST #_____002-99-algas
CHEMICAL_____Gramoxone
SPECIES_____Selenastrum capricornutum
DURATION_____96 h
RAW DATA
CONCENTRATION (mg/L) 0.10 0.20 0.30 0.60 1.00
NUMBER EXPOSED 100 100 100 100 100
MORTALITIES 41 64 85 93 97
SPEARMAN-KARBER TRIM 41.00
SPEARMAN-KARBER ESTIMATES eC50 0.1311579
 95% LOWER CONFIDENCE 0.10
 95% UPPER CONFIDENCE 0.18

ANEXO 2

BURLINGTON RESEARCH, INC.
TRIMMED SPEARMAN-KARBER METHOD FOR CALCULATION OF
EC50 AND LC50 VALUES IN BIOASSAYS

FOR REFERENCE, CITE

M.A. HAMILTON, R.C. RUSSO, AND R.V. THURSTON, 1977.
TRIMMED SPEARMAN-KARBER METHOD FOR ESTIMATING MEDIAN
LETHAL CONCENTRATIONS IN TOXICITY BIOASSAYS.
ENVIRON. SCI. TECHNOL. 11(7) 714-719
CORRECTION 12(4) 417 (1978).

DATE 20-06-1999

TEST # 003-99-algas

CHEMICAL Cefanol

SPECIES Selenastrum capricornutum

DURATION 96 h

RAW DATA

CONCENTRATION(mg/L)	100.00	200.00	300.00	600.00	1000.00
NUMBER EXPOSED	100	100	100	100	100
MORTALITIES	19	56	64	87	95
SPEARMAN-KARBER TRIM			19.00		
SPEARMAN-KARBER ESTIMATES		eC50	200.1495056		
		95% LOWER CONFIDENCE	175.88		
		95% UPPER CONFIDENCE	227.77		

BURLINGTON RESEARCH, INC.
TRIMMED SPEARMAN-KARBER METHOD FOR CALCULATION OF
EC50 AND LC50 VALUES IN BIOASSAYS

FOR REFERENCE, CITE
M.A. HAMILTON, R.C. RUSSO, AND R.V. THURSTON, 1977.
TRIMMED SPEARMAN-KARBER METHOD FOR ESTIMATING MEDIAN
LETHAL CONCENTRATIONS IN TOXICITY BIOASSAYS.
ENVIRON. SCI. TECHNOL. 11(7) 714-719
CORRECTION 12(4) 417 (1978).

DATE_____20-06-1999
TEST #_____004-99-algas
CHEMICAL_____Isatalonil 500 SC
SPECIES_____Selenastrum capricornutum
DURATION_____96 h
RAW DATA
CONCENTRATION(mg/L) 0.10 0.20 0.30 0.60 1.00
NUMBER EXPOSED 100 100 100 100 100
MORTALITIES 32 69 81 92 100
SPEARMAN-KARBER TRIM 32.00
SPEARMAN-KARBER ESTIMATES eC50 0.1401029
 95% LOWER CONFIDENCE 0.12
 95% UPPER CONFIDENCE 0.17

BURLINGTON RESEARCH, INC.
 TRIMMED SPEARMAN-KARBER METHOD FOR CALCULATION OF
 EC50 AND LC50 VALUES IN BIOASSAYS

FOR REFERENCE, CITE

M.A. HAMILTON, R.C. RUSSO, AND R.V. THURSTON, 1977.
 TRIMMED SPEARMAN-KARBER METHOD FOR ESTIMATING MEDIAN
 LETHAL CONCENTRATIONS IN TOXICITY BIOASSAYS.
 ENVIRON. SCI. TECHNOL. 11(7) 714-719
 CORRECTION 12(4) 417 (1978).

DATE_____20-06-1999
 TEST #_____005-99-algas
 CHEMICAL_____Dithane PM
 SPECIES_____Selenastrum capricornutum
 DURATION_____96 h

» RAW DATA

CONCENTRATION (mg/L)	0.06	0.10	0.30	0.60	1.00
NUMBER EXPOSED	100	100	100	100	100
MORTALITIES	31	44	48	79	90
SPEARMAN-KARBER TRIM			31.00		
SPEARMAN-KARBER ESTIMATES		eC50		0.2028539	
		95% LOWER CONFIDENCE		0.15	
		95% UPPER CONFIDENCE		0.28	

ANEXO 5

BURLINGTON RESEARCH, INC.
 TRIMMED SPEARMAN-KARBER METHOD FOR CALCULATION OF
 EC50 AND LC50 VALUES IN BIOASSAYS

FOR REFERENCE, CITE
 M.A. HAMILTON, R.C. RUSSO, AND R.V. THURSTON, 1977.
 TRIMMED SPEARMAN-KARBER METHOD FOR ESTIMATING MEDIAN
 LETHAL CONCENTRATIONS IN TOXICITY BIOASSAYS.
 ENVIRON. SCI. TECHNOL. 11(7) 714-719
 CORRECTION 12(4) 417 (1978).

DATE_____26-07-1999
 TEST #_____001-99-microcrustaceos
 CHEMICAL_____Roundup
 SPECIES_____Daphnia magna
 DURATION_____48 h
) RAW DATA

CONCENTRATION (mg/L)	1.00	2.00	3.00	6.00	10.00
NUMBER EXPOSED	20	20	20	20	20
MORTALITIES	4	11	13	16	20
SPEARMAN-KARBER TRIM			20.00		
SPEARMAN-KARBER ESTIMATES		eC50		2.0396488	
		95% LOWER CONFIDENCE		1.48	
		95% UPPER CONFIDENCE		2.80	

ANEXO 6

BURLINGTON RESEARCH, INC.
TRIMMED SPEARMAN-KARBER METHOD FOR CALCULATION OF
EC50 AND LC50 VALUES IN BIOASSAYS

FOR REFERENCE, CITE
M.A. HAMILTON, R.C. RUSSO, AND R.V. THURSTON, 1977.
TRIMMED SPEARMAN-KARBER METHOD FOR ESTIMATING MEDIAN
LETHAL CONCENTRATIONS IN TOXICITY BIOASSAYS.
ENVIRON. SCI. TECHNOL. 11(7) 714-719
CORRECTION 12(4) 417 (1978).

DATE_____26-07-1999
TEST #_____002-99-microcrustaceos
CHEMICAL_____Gramoxone
SPECIES_____Daphnia magna
DURATION_____48 h

RAW DATA

CONCENTRATION (mg/L)	1.00	2.00	3.00	6.00	10.00
NUMBER EXPOSED	20	20	20	20	20
MORTALITIES	3	7	9	17	20
SPEARMAN-KARBER TRIM			15.00		
SPEARMAN-KARBER ESTIMATES		eC50		2.8657331	
		95% LOWER CONFIDENCE		2.20	
		95% UPPER CONFIDENCE		3.74	

BURLINGTON RESEARCH, INC.
 TRIMMED SPEARMAN-KARBER METHOD FOR CALCULATION OF
 EC50 AND LC50 VALUES IN BIOASSAYS

FOR REFERENCE, CITE
 M.A. HAMILTON, R.C. RUSSO, AND R.V. THURSTON, 1977.
 TRIMMED SPEARMAN-KARBER METHOD FOR ESTIMATING MEDIAN
 LETHAL CONCENTRATIONS IN TOXICITY BIOASSAYS.
 ENVIRON. SCI. TECHNOL. 11(7) 714-719
 CORRECTION 12(4) 417 (1978).

DATE_____26-07-1999
 TEST #_____003-99-microcrustaceos
 CHEMICAL_____Cefanol
 SPECIES_____Daphnia magna
 DURATION_____48 h
 RAW DATA

CONCENTRATION (mg/L)	0.60	1.00	2.00	3.00	6.00
NUMBER EXPOSED	20	20	20	20	20
MORTALITIES	6	9	12	13	20

 SPEARMAN-KARBER TRIM 30.00
 SPEARMAN-KARBER ESTIMATES eC50 1.3360074
 95% LOWER CONFIDENCE 0.81
 95% UPPER CONFIDENCE 2.19

ANEXO 8

BURLINGTON RESEARCH, INC.
TRIMMED SPEARMAN-KARBER METHOD FOR CALCULATION OF
EC50 AND LC50 VALUES IN BIOASSAYS

FOR REFERENCE, CITE
M.A. HAMILTON, R.C. RUSSO, AND R.V. THURSTON, 1977.
TRIMMED SPEARMAN-KARBER METHOD FOR ESTIMATING MEDIAN
LETHAL CONCENTRATIONS IN TOXICITY BIOASSAYS.
ENVIRON. SCI. TECHNOL. 11(7) 714-719
CORRECTION 12(4) 417 (1978).

DATE_____26-07-1999
TEST #_____004-99-microcrustaceos
CHEMICAL_____Isatalonil 500 SC
SPECIES_____Daphnia magna
DURATION_____48 h
) RAW DATA
CONCENTRATION(mg/L) 0.10 0.20 0.30 0.60 1.00
NUMBER EXPOSED 20 20 20 20 20
MORTALITIES 8 15 20 20 20
SPEARMAN-KARBER TRIM 40.00
SPEARMAN-KARBER ESTIMATES eC50 0.1219014
 95% LOWER CONFIDENCE 0.07
 95% UPPER CONFIDENCE 0.20

ANEXO 9

BURLINGTON RESEARCH, INC.
TRIMMED SPEARMAN-KARBER METHOD FOR CALCULATION OF
EC50 AND LC50 VALUES IN BIOASSAYS

FOR REFERENCE, CITE

M.A. HAMILTON, R.C. RUSSO, AND R.V. THURSTON, 1977.
TRIMMED SPEARMAN-KARBER METHOD FOR ESTIMATING MEDIAN
LETHAL CONCENTRATIONS IN TOXICITY BIOASSAYS.
ENVIRON. SCI. TECHNOL. 11(7) 714-719
CORRECTION 12(4) 417 (1978).

DATE_____26-07-1999
TEST #_____005-99-microcrustaceos
CHEMICAL_____Dithane PM
SPECIES_____Daphnia magna
DURATION_____48 h
RAW DATA
CONCENTRATION (mg/L) 0.10 0.20 0.30 0.60 1.00
NUMBER EXPOSED 20 20 20 20 20
MORTALITIES 3 11 19 20 20
SPEARMAN-KARBER TRIM 15.00
SPEARMAN-KARBER ESTIMATES eC50 0.1751144
 95% LOWER CONFIDENCE 0.15
 95% UPPER CONFIDENCE 0.21

ANEXO 10